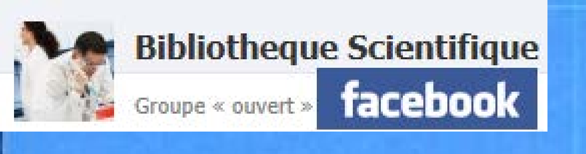


L'indispensable



Biochimie

1ER CYCLE UNIVERSITAIRE SCIENTIFIQUE
I.U.T. DE CHIMIE
ÉCOLES D'INGÉNIEUR

Sous la direction de
Geneviève M.L. Dumas
et Roger I. Ben-Aïm



Copyrighted material



Copyrighted material

L'indispensable en Biochimie

Copyrighted material

Dans la même collection

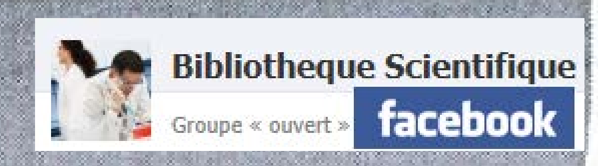
L'indispensable en Atomistique
L'indispensable en Cinétique chimique
L'indispensable en Électrochimie
L'indispensable en État solide
L'indispensable en Liaisons chimiques
L'indispensable en Réactions ioniques en solution aqueuse
L'indispensable en Thermodynamique chimique : fondements
L'indispensable en Thermodynamique chimique : applications

Maquette et couverture : **Joëlle Parreau**
Composition, mise en page : **Édicompo, Reims**

© BRÉAL, 2005
Toute reproduction même partielle interdite
ISBN : 978 2 7495 03240
Dépôt légal : janvier 2008

Copyrighted material

L'indispensable





Biochimie

Françoise Valentini

Maître de conférence
à l'Université Pierre et Marie Curie
Docteur en médecine

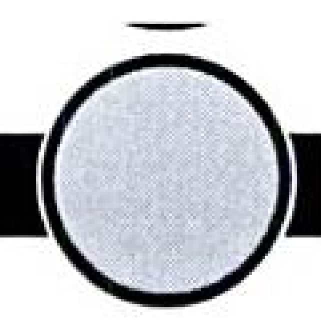


1, rue de Rome - 93561 Rosny-sous-Bois cedex

Copyrighted material

Sommaire

Avant-propos



Cet ouvrage comporte des éléments fondamentaux nécessaires à la compréhension du fonctionnement des êtres vivants. Il expose les notions de biochimie qui figurent aux programmes des premières années des études universitaires et des classes préparatoires scientifiques des lycées. Ainsi, nous espérons qu'il sera utile aux étudiants en biologie, en médecine, en pharmacie… Il s'adresse aussi à tous ceux qui s'intéressent aux processus chimiques permettant le fonctionnement de la cellule et des organismes vivants.

La biochimie est un domaine scientifique qui est actuellement en évolution rapide ; elle comporte plusieurs branches qui tendent à se développer de manière autonome. Ceci nous a conduit, dans le cadre restreint de cet ouvrage, à effectuer des choix quant aux sujets développés que nous avons regroupés en trois parties.

La première partie (fiches 1 à 6) expose **les notions de chimie** nécessaires à l'étude de la biochimie.

La seconde partie (fiches 7 à 18) décrit les **structures** des constituants biochimiques les plus importants de la cellule.

La troisième partie (fiches 19 à 21) développe les principaux **processus énergétiques** liés au fonctionnement de la cellule.

Un index détaillé complète cet ouvrage.

Dans l'esprit de cette collection, nous avons essayé d'être aussi précis, rigoureux et concis que possible afin que les étudiants disposent d'un outil facile à consulter, qui leur serve de support pour l'étude du cours magistral et d'aide-mémoire pendant leurs études et leur activité professionnelle.

Nous espérons avoir atteint notre objectif et nous accueillerons avec intérêt toutes les remarques et suggestions qui nous serons adressées par courrier électronique à l'adresse suivante : editorial@editions-breal.fr

Les auteurs


This One
2UHR-SZH-S678
Copyrighted material

Copyrighted material

PARTIE I

Concepts utiles en biochimie



Copyrighted material



Liaisons physico-chimiques

Les liaisons physico-chimiques intervenant dans les systèmes biochimiques peuvent être classées en **liaisons fortes** s'exerçant à courte distance ($\leq$ 1,6Å) entre atomes voisins et **liaisons faibles** intervenant à plus grande distance.

1. Les liaisons fortes

Elles correspondent à une énergie comprise entre 150 et 850 $kJ \cdot mol^{-1}$. On distingue les liaisons covalentes et les liaisons ioniques.

1.1. La liaison covalente

– Liaison simple

La liaison covalente **simple,** appelée **liaison σ,** s'établit entre deux atomes par mise en commun d'**un seul doublet** ou paire d'électrons. Elle se caractérise par une grande probabilité de présence des électrons du doublet entre les atomes liés et par une libre rotation des atomes autour de l'axe de la liaison. Notons que le doublet peut résulter de l'apport par chaque atome d'un électron ou de la mise en commun d'une paire d'électrons libre appartenant à l'un des deux atomes. En raison de la nature des atomes rencontrés dans le milieu biologique, l'énergie des liaisons covalentes est comprise entre 350 et 850 $kJ \cdot mol^{-1}$.

– Liaisons multiples

Les liaisons multiples s'établissent lorsque plusieurs paires d'électrons sont mises en commun entre deux atomes. Une **liaison double** se compose d'une liaison σ et d'une liaison π (figure 1), une **liaison triple** d'une liaison σ et de deux liaisons π. Le caractère multiple de la liaison covalente implique la perte de la libre rotation autour de l'axe de liaison et donc un caractère rigide. De plus, les liaisons multiples sont plus courtes (C=C : 1,34 Å alors que C—C : 1,54 Å) et impliquent des énergies de rupture plus importantes que les liaisons simples.

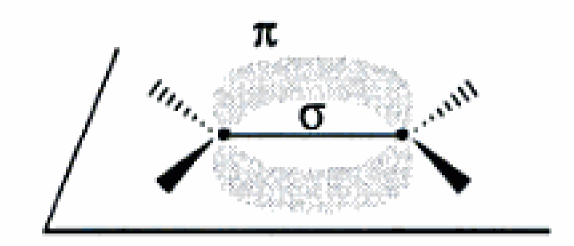
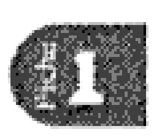


Fig. 1 – Schéma d'une double liaison.

– Liaisons du squelette carboné

L'atome de carbone, élément de base des molécules biochimiques, peut établir quatre liaisons covalentes, permettant ainsi la formation de longs squelettes

Copyrighted material



carbonés. Lorsqu'il s'agit de quatre liaisons simples, l'atome de carbone est au centre d'un tétraèdre ; les angles de liaisons sont voisins de 109,5° (figure 2A). La présence d'une double liaison implique la planéité de la molécule et des angles de liaisons voisins de 120° (figure 2B).

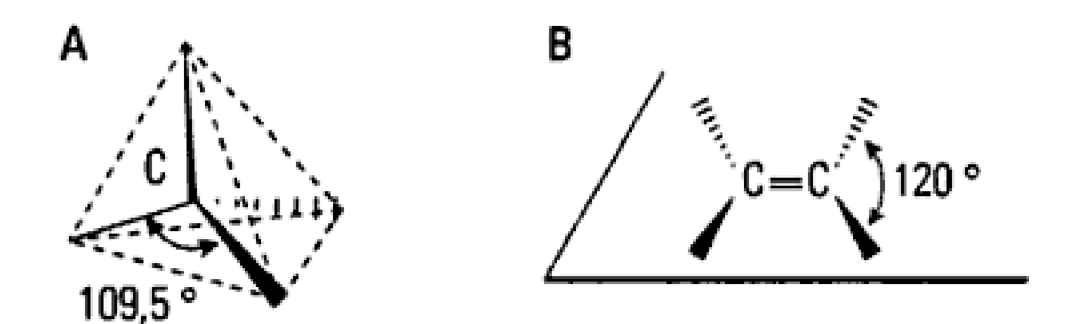


Fig. 2 – Liaisons covalentes de l'atome de carbone.
(A) Structure tétraédrique de l'atome de carbone C.
(B) La présence d'une double liaison entre 2 atomes de carbone implique la planéité de la molécule.

1.2. La liaison ionique

La liaison ionique résulte de l'interaction entre ions de charges électriques opposées. L'interaction, de nature électrostatique, est très forte et conduit généralement à des solides cristallins. Les halogénures alcalins, tels le chlorure de sodium NaCl, constituent les meilleurs exemples de ce type de liaison.

1.3. Le caractère ionique partiel de la liaison covalente

Les liaisons covalentes entre atomes d'électronégativité différente ont un caractère dissymétrique : la paire d'électrons de liaison est « déplacée » vers l'atome de plus grande électronégativité. Il en résulte une polarisation de la liaison ; chaque atome acquiert une charge partielle δ ($|\delta| < |e|$).

Cette polarisation est caractérisée par un moment dipolaire $\vec{\mu}$ égal au produit de la charge partielle par la longueur de la liaison.

2. Les liaisons faibles

Elles correspondent à des interactions inter- ou intramoléculaires mettant en jeu des énergies inférieures à 40 $kJ \cdot mol^{-1}$.

2.1. La liaison hydrogène

L'énergie d'une telle liaison est comprise entre 15 et 40 $kJ \cdot mol^{-1}$. Une interaction s'établit entre un atome d'hydrogène lié par liaison covalente à un atome fortement électronégatif (F, O, N) et attiré par un autre atome fortement électronégatif possédant un doublet d'électrons libre (figure 3). La liaison hydrogène (N···H : 2,0 Å) est plus longue que la liaison covalente : la

Copyrighted material

liaison hydrogène N···H mesure 2,0 Å, alors que la liaison covalente N—H mesure 1,04 Å.

$$\overset{-\delta}{-\overline{\underline{O}}}-\overset{+\delta}{H}\cdots\overset{-\delta}{|N}-$$

Fig. 3 – Liaison hydrogène.

La liaison hydrogène la plus forte correspond à un arrangement linéaire des trois atomes impliqués.

2.2. Les interactions de van der Waals

Ces interactions entre dipôles électriques sont de nature électrostatique et ont une énergie comprise entre 0 et 20 $kJ \cdot mol^{-1}$. Ce sont essentiellement des **interactions d'induction** ; elles tendent à établir une liaison entre les entités concernées. Lorsque la distance devient trop faible, les forces de répulsion entrent en jeu. On distingue les interactions de **Keesom** (dipôle permanent-dipôle permanent), les interactions de **Debye** (dipôle permanent-dipôle induit) et les interactions de **London** (dipôle instantané-dipôle induit).

Le rayon de van der Waals (r_w) est la demi-distance internucléaire d'équilibre entre atomes appartenant à des molécules homonucléaires distinctes ; c'est la distance minimale d'approche entre les deux atomes (figure 4).

r_w est donné par :

$$r_w = r + 0{,}8 \text{ Å}$$

où r représente le rayon covalent.

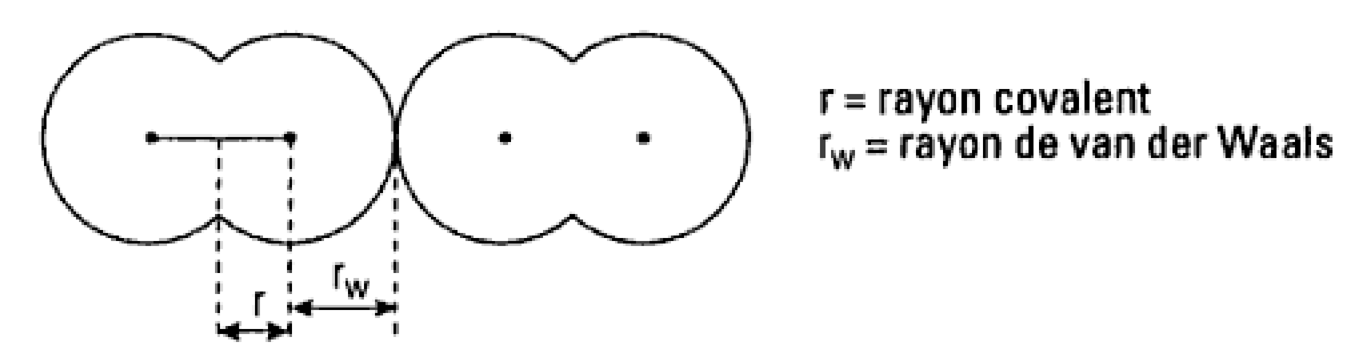


Fig. 4 – Interactions de van der Waals.

Copyrighted material

Stéréoisomérie



Des molécules sont **stéréoisomères** lorsqu'elles ont la même formule semi-développée et des arrangements spatiaux différents de leurs atomes.

On utilise deux modes de représentation plane de la structure tridimensionnelle des molécules.

– La **convention de Cram** : le symbole — représente une liaison dans le plan de la figure, le symbole ◄ une liaison en avant et le symbole ⋯ une liaison en arrière (figure 1).

COOH, H, H_3C, NH_2

— : liaison dans le plan de la figure
◄ : liaison en avant du plan de la figure
⋯ : liaison en arrière du plan de la figure

Fig. 1 – Représentation de la L – alanine selon la convention de Cram.

– La **projection de Newman** permet de visualiser la position des substituants de deux atomes de carbone voisins. Elle se déduit de la représentation de Cram : le plan de projection est perpendiculaire à la liaison carbone-carbone, le carbone en avant est représenté par un point et le carbone en arrière par un cercle (figure 2).

A : CHO, H, CH_2OH, H, OH, OH — D – érythrose

B : CHO, H, CH_2OH, H, O—H, O, H

Fig. 2 – Représentation du D – érythrose selon la convention de Cram (A) et selon la projection de Newman (B).

On distingue la stéréoisomérie de **conformation** et la stéréoisomérie de **configuration**.

1. Stéréoisomérie de conformation

La stéréoisomérie de conformation résulte de la libre rotation des atomes autour des liaisons simples ; elle est facilitée par l'agitation thermique et ne nécessite pas de rupture de liaison.

Les **conformères** d'une molécule sont les divers arrangements spatiaux que peut prendre cette molécule. D'un point de vue énergétique, les conformations décalées (cf. représentation de Newman) sont les plus stables. Par ailleurs, certains conformères peuvent être stabilisés par des interactions intra- ou inter-moléculaires telles la liaison hydrogène. Les différents conformères d'une même molécule ne peuvent être isolés.

Copyrighted Material

2. Stéréoisomérie de configuration

Contrairement à la stéréoisomérie de conformation, il faut rompre certaines liaisons et en former d'autres pour passer d'un isomère à l'autre dans le cas de la stéréoisomérie de configuration. Les isomères ont des propriétés physiques et/ou chimiques différentes conduisant ainsi à des isomères **séparables** ; ils sont appelés **diastéréoisomères**.

On distingue la stéréoisomérie **géométrique** (**Z/E** et **cis/trans cyclanique**) et la stéréoisomérie **optique**.

2.1. Stéréoisomérie géométrique Z/E

Elle résulte de la présence d'une double liaison éthylénique dont chaque carbone porte deux substituants différents ; c'est par exemple le cas de l'acide butène dioïque de formule semi-développée HOOC—CH=CH—COOH. Les **règles de priorité de Cahn, Ingold et Prelog** permettent de classer les substituants : la priorité croît avec le **numéro atomique**.

Dans la configuration Z (Zusammen : ensemble), les substituants de même priorité sont situés du même côté de la double liaison, dans la configuration E (Entgegen : opposé), ils sont situés de part et d'autre de cette liaison. Pour l'acide butène dioïque, il existe deux **diastéréoisomères** : l'acide maléique (configuration Z) et l'acide fumarique (configuration E) (figure 3).

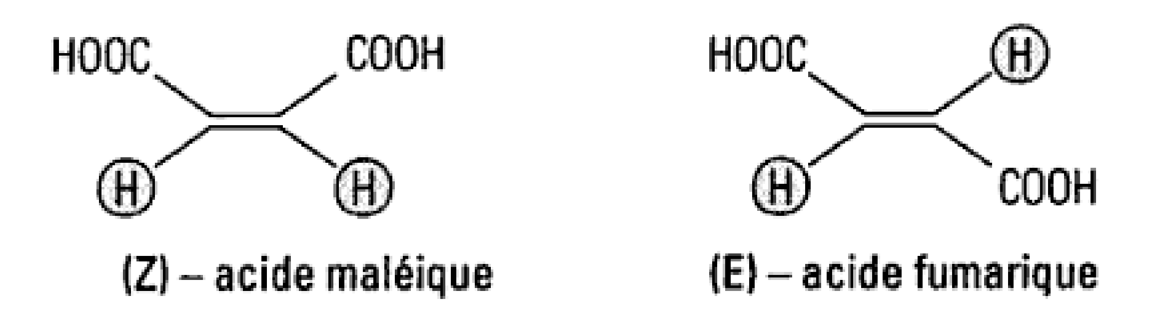


Fig. 3 – Stéréoisomérie géométrique Z/E.

2.2. Stéréoisomérie géométrique cis/trans cyclanique

Semblable à la stéréoisomérie géométrique Z/E, la stéréoisomérie géométrique cis/trans cyclanique décrit la position de substituants par rapport au plan moyen d'un cycle (figure 4).

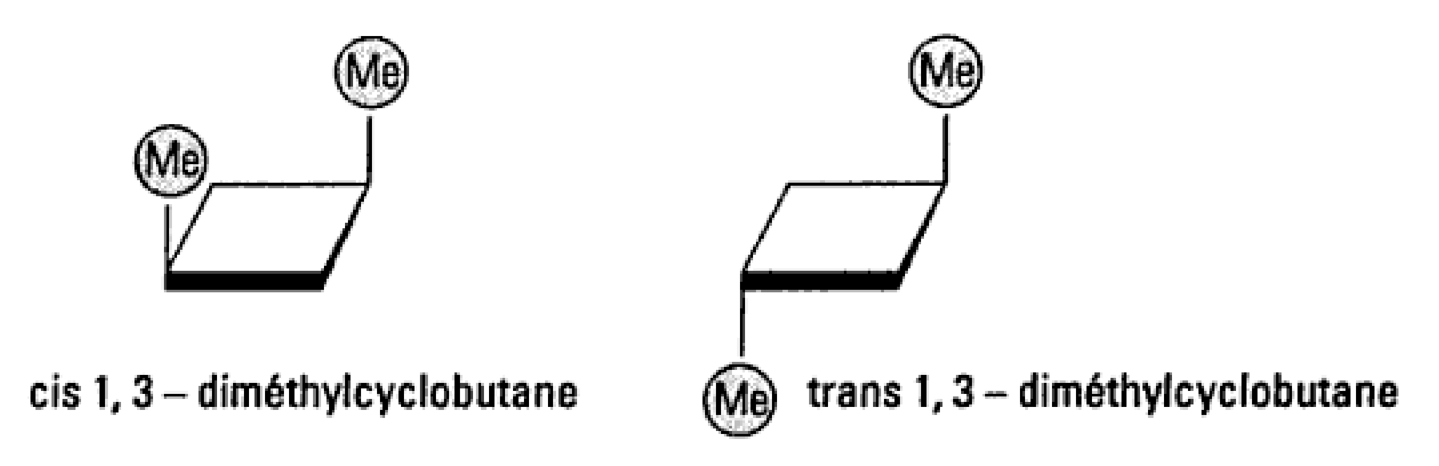
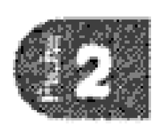


Fig. 4 – Stéréoisomérie géométrique cis/trans cyclanique.

Copyrighted material



2.3. Stéréoisomérie optique

– Carbone asymétrique et activité optique

De très nombreuses substances importantes en biochimie comportent un ou plusieurs atomes de **carbone asymétrique**. Un carbone asymétrique est un atome de carbone lié à quatre atomes ou groupes d'atomes différents ; il est généralement noté C*. Une molécule renfermant un carbone asymétrique est dite **chirale** ; elle n'est pas superposable à son image dans un miroir. Deux stéréoisomères images l'un de l'autre sont appelés **énantiomères** (figure 5) ; ils ne diffèrent l'un de l'autre que par une propriété physique, leur **activité optique**.

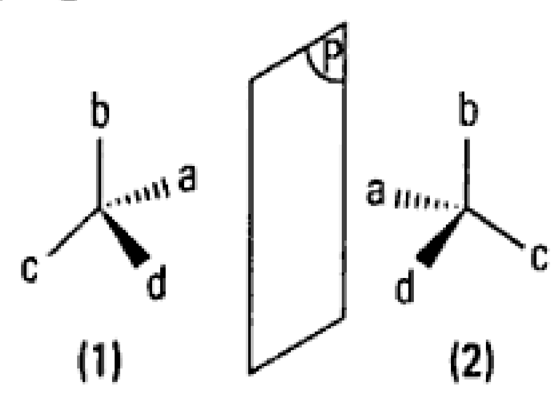


Fig. 5 – Éniantomères. Le stéréoisomère (1) n'est pas superposable à son image dans un miroir, le stéréoisomère (2).

Lorsqu'un faisceau de lumière monochromatique polarisée traverse une cuve à faces parallèles d'épaisseur l remplie d'une solution d'un énantiomère à la concentration c, le plan de polarisation subit une rotation d'un angle α dont la valeur est donné par la **loi de Biot** :

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{\theta} \cdot l \cdot c$$

où α est exprimé en °, l en dm, c en $g \cdot dm^{-3}$. $[\alpha]_{\lambda}^{\theta}$ représente le **pouvoir rotatoire spécifique** à la température θ pour une longueur d'onde λ.

Une substance est dite :

(*i*) **lévogyre** (l ou -) si le plan de polarisation est dévié dans le sens inverse de rotation des aiguilles d'une montre,

(*ii*) **dextrogyre** (d ou +) si le plan de polarisation est dévié dans le sens de rotation des aiguilles d'une montre.

L'expérience seule permet de préciser si une substance est lévogyre ou dextrogyre.

Le mélange équimolaire de deux énantiomères, appelé **mélange racémique,** est sans action sur la lumière polarisée : l'activité optique de chaque énantiomère s'annule par compensation. La plupart des substances naturelles existent sous la forme d'un seul énantiomère et la plupart des réactions chimiques du milieu biologique impliquent un seul membre d'une paire d'énantiomères.

– Configuration absolue R, S

La configuration absolue décrit l'arrangement des substituants autour du carbone asymétrique.

Copyrighted material



Elle est déterminée en appliquant les **règles de priorité de Cahn, Ingold et Prelog** (cf. paragraphe 2-1 de cette fiche). Dans l'exemple de l'acide lactique $CH_3-CHOH-COOH$, l'ordre de priorité des différents substituants est le suivant :

$$-OH > -COOH > -CH_3 > -H$$

Sur la représentation de Cram, l'observateur regarde le carbone chiral du côté opposé au substituant de plus faible priorité ; la description des autres substituants s'effectue dans le sens de priorité décroissant. Si elle correspond au sens de rotation des aiguilles d'une montre, il s'agit de la **configuration R** (rectus) ; si elle correspond au sens inverse de rotation des aiguilles d'une montre, il s'agit de la **configuration S** (sinister) (figure 6).

La configuration absolue (R ou S) n'est pas corrélée au pouvoir rotatoire.

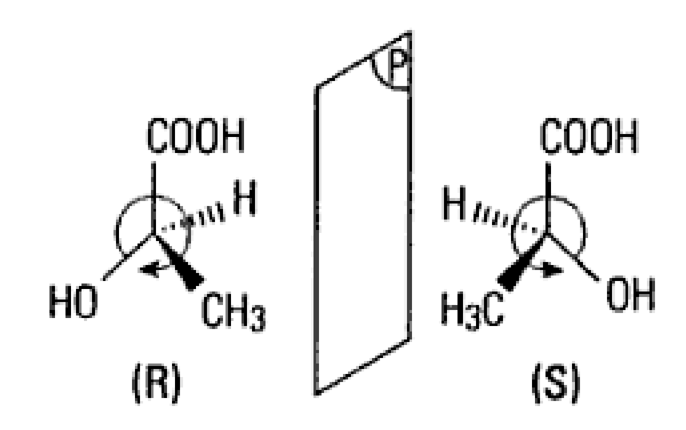


Fig. 6 – Représentation de la configuration absolue R ou S.

– Cas de plusieurs carbones asymétriques

Une molécule possédant *n* carbones asymétriques comporte, en l'absence d'éléments de symétrie, 2^n stéréoisomères ayant des relations d'**énantiomérie** et de **diastéréoisomérie** (figure 7). Deux stéréoisomères qui ne diffèrent que par la configuration absolue d'un carbone asymétrique sont des **épimères**.

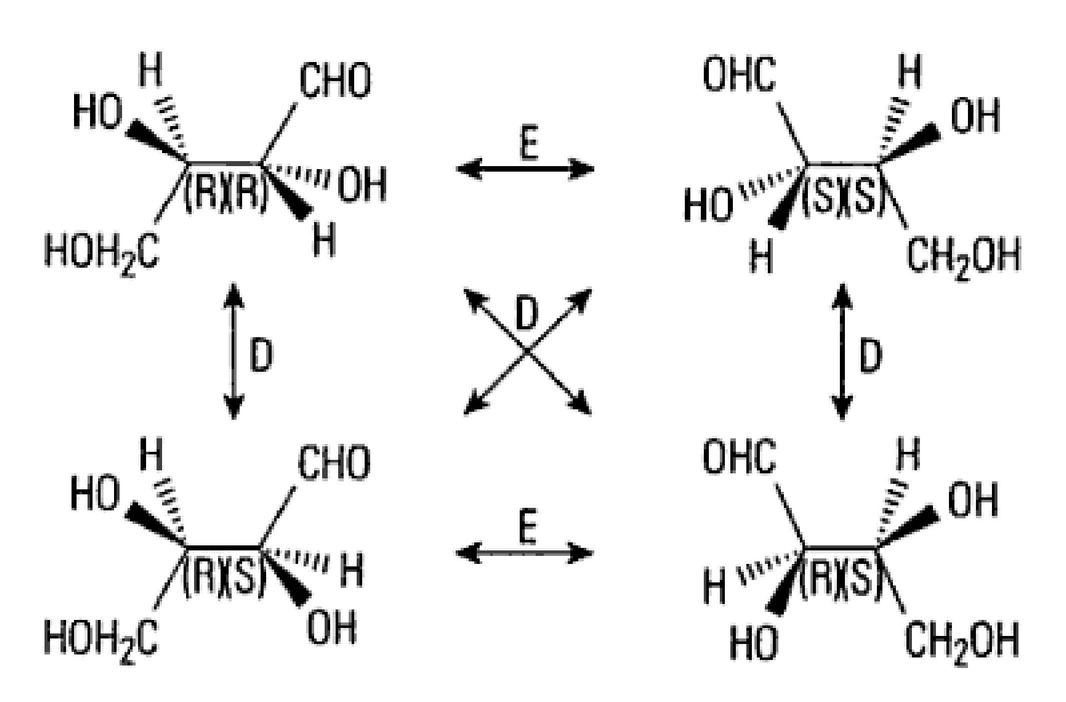


Fig. 7 – Relations d'énantiomérie (E) et de diastéréoisomérie (D) pour le 2, 3, 4 – trihydroxybutanal.

Copyrighted material

– Projection de Fischer

La projection de Fischer est un mode de représentation du carbone asymétrique ; ce dernier est dans le plan de projection. La chaîne carbonée la plus longue est verticale, le groupe fonctionnel le plus oxydé étant positionné en haut de cette chaîne. Les traits verticaux représentent des liaisons dirigées vers l'arrière, les traits horizontaux des liaisons dirigées vers l'avant (figure 8).

Fig. 8 – Représentation du D – glycéraldéhyde selon la projection de Fischer.

– Configuration relative D, L

Elle concerne la configuration absolue d'un seul carbone asymétrique dans la représentation de Fischer. Initialement établie pour les oses, elle s'applique également aux acides α-aminés et aux acides α-alcools.

Pour les oses, la configuration D indique que le groupe fonctionnel hydroxyle – OH du dernier carbone asymétrique est à droite de la chaîne carbonée ; il est à gauche dans le cas de la configuration L.

Pour les acides α-aminés et les acides α-alcools, c'est le carbone asymétrique portant la fonction amine ou la fonction alcool qui est concerné. On détermine ainsi les séries D et L (figure 9).

Fig. 9 – Représentation de la configuration relative D, L.

La configuration relative (D ou L) n'est pas corrélée au pouvoir rotatoire.

Copyrighted material



L'eau représente environ 70% de la masse des organismes vivants, les extrêmes allant de 10% dans les graines à 95% dans les méduses. Elle joue un rôle important dans les réactions biochimiques.

1. Structure moléculaire

La molécule d'eau H_2O comporte deux liaisons covalentes simples polarisées : $^{+\delta}H-O^{-\delta}$

L'atome d'oxygène O est au centre d'un **tétraèdre irrégulier** dont deux sommets sont occupés par les deux atomes d'hydrogène $\left(H\widehat{O}H = 104{,}5°\right)$ et les deux autres par des doublets électroniques libres (figure 1). La molécule d'eau possède un **moment dipolaire** important : $\vec{\mu}$ = 1,85 Debye.

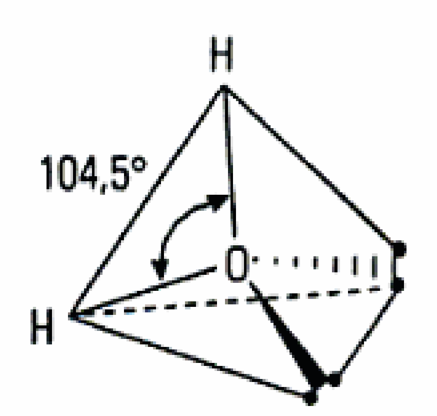


Fig. 1 – Structure moléculaire de la molécule d'eau (H_2O) (•• : doublet d'électrons libre).

La polarisation des liaisons O—H permet la création de **liaisons hydrogène intermoléculaires** à l'état liquide et à l'état solide. Quatre liaisons de ce type peuvent s'établir autour d'une molécule d'eau (figure 2). La longueur des liaisons hydrogène est de 1,7 Å alors que celle de la liaison covalente O—H est de 1,0 Å. Par ailleurs, toutes les liaisons hydrogène n'ont pas la même énergie ; la liaison la plus forte correspond à une organisation linéaire des trois atomes impliqués : H—O····H. Les liaisons hydrogène peuvent être rompues lors de collisions dues à l'agitation thermique. À 37°C, le nombre de liaisons hydrogène est en moyenne de 3,4 par molécule et leur durée de vie est de l'ordre de la nanoseconde ce qui explique le caractère fluide de l'eau liquide.

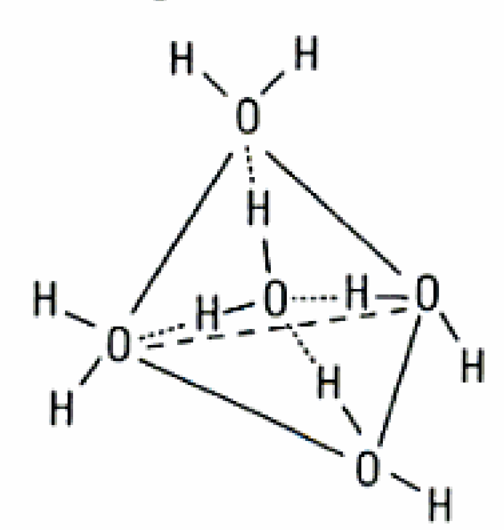
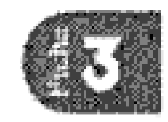


Fig. 2 – Liaisons hydrogène entre molécules d'eau.

Copyrighted material



2. Rôle de solvant biologique

La molécule d'eau possède une grande constante diélectrique ε_r ($\varepsilon_r = 80$) ; elle est donc un excellent solvant vis-à-vis des composés ioniques tels les sels minéraux ou polaires tels les sucres et les alcools. L'eau permet également la dispersion de macromolécules possédant une extrémité polaire tels les acides gras.

2.1. Dissolution d'un électrolyte

La dissolution d'un électrolyte dans l'eau comporte trois étapes : dissociation, solvatation et dispersion.

– Dissociation

La dissociation en ions d'un cristal ionique ou d'une molécule polaire résulte d'interactions attractives électrostatiques entre les ions et les molécules d'eau.

– Solvatation

Les ions dissous s'entourent de plusieurs molécules d'eau par attraction électrostatique de type ion-dipôle. Le nombre de molécules d'eau de la première couche de solvatation dépend de la taille et de la charge de l'ion. Par exemple, on a : Na^+, $6\,H_2O$ et Cl^-, $2\,H_2O$ (figure 3). Ce phénomène est aussi appelé hydratation.

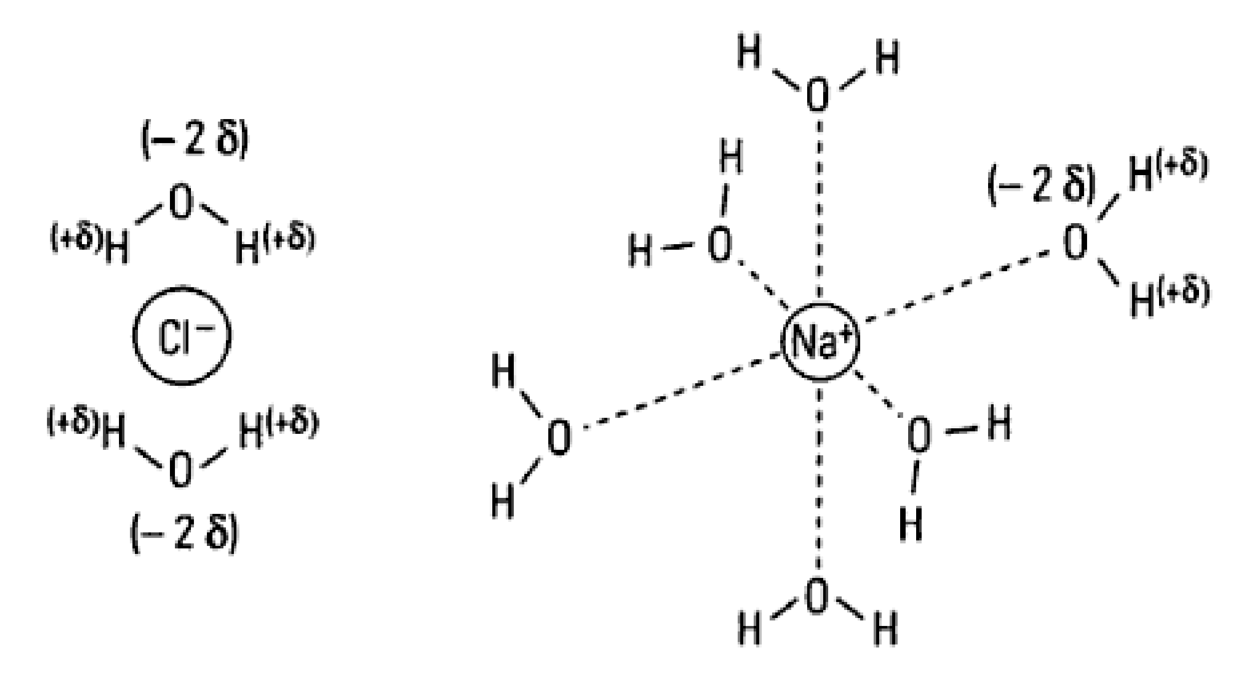


Fig. 3 – Hydratation (solvatation) du chlorure de sodium NaCl.

– Dispersion

La dispersion des espèces dissoutes résulte de l'agitation thermique.

2.2. Dissolution des composés biologiques : interactions hydrophiles et hydrophobes

De nombreuses molécules polaires peuvent s'associer par l'intermédiaire de liaisons hydrogène avec l'eau. Les groupes fonctionnels hydroxyle (–OH), carbonyle (–CO–), acide carboxylique (–COOH) et amine ($-NH_2$) constitutifs de certains composés sont les principaux concernés. Ils sont dits

Copyrighted material

groupements **hydrophiles** et conditionnent le caractère hydrosoluble ; les oses, comportant plusieurs groupes hydroxyle sont très hydrosolubles.

Au contraire, d'autres molécules ne comportent aucun atome porteur de charge et ne peuvent donner naissance à des associations avec l'eau ; ce sont des molécules **hydrophobes** à longues chaînes carbonées.

Certaines molécules comportent à la fois une partie hydrophobe et une extrémité hydrophile ; elles sont dites **amphiphiles** (figure 4). Les acides gras et les protéines transmembranaires sont des exemples de molécules amphiphiles. En solution aqueuse, les acides gras s'organisent sous forme de micelle (figure 5) ; les parties hydrophiles sont au contact de l'eau, les chaînes hydrophobes sont au centre et associées par des interactions de van der Waals.

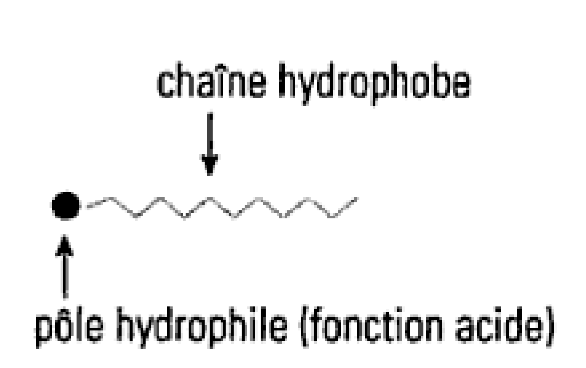


Fig. 4 – Schéma d'un acide gras (molécule amphiphile).

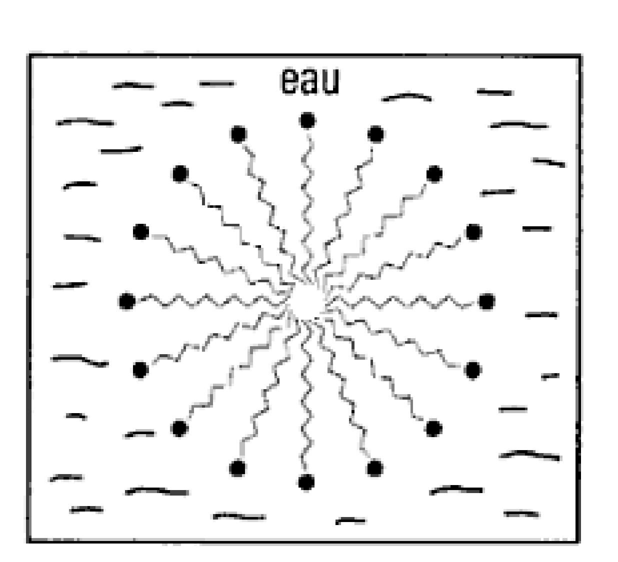


Fig. 5 – Micelle.

3. Organisation de l'eau dans la cellule

Les molécules d'eau s'organisent autour des ions et des macromolécules présents dans la cellule. Les interactions électrostatiques permettent la formation d'une couche monomoléculaire (eau liée) autorisant l'échange de protons (cf. fiche 4).

Lorsqu'il existe une grande densité de macromolécules comme dans la matrice mitochondriale (cf. fiche 19), les déplacements de ces macromolécules sont limités en raison du faible nombre de molécules d'eau entre elles ; ceci entraîne une relative stabilité du système et facilite certaines réactions chimiques.

Copyrighted material

Équilibre acido-basique



On appelle réactions acido-basiques les réactions impliquant un transfert de protons. Nous indiquons, sans démonstration, quelques propriétés des équilibres acido-basiques.

1. Notion d'activité

L'**activité a_i** du constituant i d'une solution est :

$$a_i = \frac{\gamma_i \cdot [Y_i]}{[Y_i]_{réf}}$$

où γ_i est le coefficient d'activité. $[Y_i]$ et $[Y_i]_{réf}$ sont les concentrations molaires respectives du constituant i en solution et à l'état de référence. L'activité est égale à 1 dans l'état de référence.

Dans le cas d'une solution diluée du constituant i dans le solvant S, on a :

– **pour le soluté i** : $\gamma_i \to 1$ quand $[Y_i] \to 0$; $[Y_i]_{réf} = 1 mol \cdot L^{-1}$ donc $\mathbf{a_i = [Y_i]}$,

– **pour le solvant S** : $\gamma_s \to 1$ quand [S] tend vers la concentration du solvant pur. Si cette concentration est prise comme état de référence : $\mathbf{a_s = 1}$.

2. Dissociation de l'eau

Dans l'eau pure, certaines molécules sont dissociées suivant l'équilibre d'**autoprotolyse** :

$$H_2O(l) \rightleftharpoons H^+(aq) + OH^-(aq) \qquad (1)$$

Le proton H^+ en solution aqueuse s'écrit sous forme solvatée $H^+(aq)$ ou H_3O^+ (cation oxonium). Dans ce dernier cas, la réaction d'autoprotolyse s'écrit :

$$2H_2O(l) \rightleftharpoons H_3O^+(aq) + OH^-(aq) \qquad (2)$$

Pour l'équation (1), l'expression du **produit ionique de l'eau K_e**, aussi appelé **constante de l'équilibre d'autoprotolyse**, s'écrit :

$$K_e = \frac{a_{H^+_{(éq)}} \cdot a_{OH^-_{(éq)}}}{a_{H_2O_{(éq)}}}$$

Dans l'eau pure, assimilable à une solution diluée des ions H^+ et OH^- : $K_e = [H^+] \cdot [OH^-]$; à 25 °C, $[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} mol \cdot L^{-1}$ soit $K_e = 10^{-14}$.

Le produit ionique de l'eau K_e dépend de la température : à 37 °C, $K_e = 5{,}5 \cdot 10^{-14}$.

Copyrighted Material

3. Notion de pH

Le **pH** exprime l'activité des ions H^+ :

$$pH = -\log a_{H^+}$$

Si la concentration est telle que la solution soit assimilable à une solution diluée, on a :

$$pH = -\log[H^+]$$

où $[H^+]$ est la concentration en protons exprimée en $mol \cdot L^{-1}$.

Dans l'eau pure, $[H^+] = 10^{-7} mol \cdot L^{-1}$ à 25 °C ; le pH de l'eau pure est donc égal à 7 à cette température mais seulement à 6,8 à 37 °C (K_e dépend de la température).

4. Acides et bases en solution aqueuse

Selon la théorie de Brönsted-Lowry, un **acide** est une espèce chimique capable de céder au moins un proton, une **base** est une espèce chimique capable de capter au moins un proton. Un **couple acido-basique** est constitué d'un acide AH et de sa base conjuguée A^-.

4.1. Monoacides

Un monoacide est une espèce chimique capable de céder un seul proton.

La mise en solution dans l'eau d'un monoacide AH conduit à l'équilibre :

$$AH(aq) + H_2O \rightleftharpoons A^-(aq) + H_3O^+(aq)$$

Cet équilibre est caractérisé par sa **constante d'équilibre** K_a appelée aussi **constante d'acidité** :

$$K_a = \frac{a_{A^-} \cdot a_{H_3O^+}}{a_{AH} \cdot a_{H_2O}}$$

soit :

$$K_a = \frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[AH]}$$

$$pK_a = -\log K_a$$

Le pK_a exprime la force du couple acido-basique.

– **Équation d'Henderson-Hasselbalch**

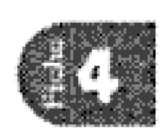
La constante d'acidité K_a conduit à l'expression :

$$[H_3O^+] = \frac{K_a \cdot [AH]}{[A^-]}$$

Sous forme logarithmique, cette expression est l'équation d'Henderson-Hasselbalch :

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

Copyrighted material



– Force des acides et des bases

Un acide est fort si son pK_a est inférieur à celui du couple H_3O^+/H_2O ($pK_a = 0$ à 25 °C).

Une base est forte si le pK_a du couple acido-basique auquel elle appartient est supérieur à celui du couple H_2O/OH^- ($pK_a = 14$ à 25 °C).

acide fort	0	acide faible	14	acide très faible	→ pK_a
base très faible		base faible		base forte	

4.2. Polyacides

Un polyacide est une espèce chimique capable de céder deux ou plusieurs protons.

L'acide phosphorique H_3PO_4 est un triacide et peut perdre successivement trois protons :

$$H_3PO_4(aq) \rightleftharpoons H_2PO_4^-(aq) + H^+(aq)$$

$$H_2PO_4^-(aq) \rightleftharpoons HPO_4^{2-}(aq) + H^+(aq)$$

$$HPO_4^{2-}(aq) \rightleftharpoons PO_4^{3-}(aq) + H^+(aq)$$

L'acide malonique est un diacide et peut perdre successivement deux protons :

$$HOOC-CH_2-COOH(aq) \rightleftharpoons HOOC-CH_2-COO^-(aq) + H^+(aq)$$

$$HOOC-CH_2-COO^-(aq) \rightleftharpoons {}^-OOC-CH_2-COO^-(aq) + H^+(aq)$$

À chaque équilibre correspondent un couple acido-basique et un pK_a.

4.3. Ampholytes

Une espèce chimique qui peut se comporter à la fois comme un acide ou une base est un **ampholyte.** Les solutions d'ampholytes sont dites **amphotères.**

L'eau, solvant biologique présent dans les couples acido-basiques H_3O^+/H_2O et H_2O/OH^- est donc un ampholyte. Dans le milieu biologique, deux ampholytes sont fréquemment rencontrés :

$H_2PO_4^-$ (dihydrogénophosphate) : dans les couples $H_3PO_4/H_2PO_4^-$ et $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$

HCO_3^- (hydrogénocarbonate) : dans les couples $CO_2(aq)/HCO_3^-$ et HCO_3^- / CO_3^{2-}

Copyrighted material

5. Système tampon

On appelle système tampon un milieu dont le pH varie peu soit par addition d'un acide ou d'une base en faible quantité, soit par dilution. Un mélange quasi-équimolaire d'un acide faible et de sa base conjuguée constitue une solution tampon dont le pH est voisin de pK_a. Pour un couple acido-basique déterminé, une solution tampon correspond aux mélanges de l'acide et de sa base conjuguée tels que leur pH soit compris dans l'intervalle $[pK_a \pm 2]$.

Les systèmes biologiques comportent des mécanismes de régulation permettant le maintien du pH d'un compartiment cellulaire proche d'une valeur constante ; le plus souvent, cette valeur est voisine de la neutralité.

Ainsi, chez l'homme, le pH du plasma sanguin est égal à 7,4. Des variations de ± 0,4 unité de pH entraînent des dommages cellulaires irréversibles. Deux couples acido-basiques jouent un rôle prépondérant pour la régulation du pH. Le pH intracellulaire est maintenu constant par le couple $H_2PO_4^-$ / HPO_4^{2-} de $pK_a = 7,2$. Le pH du secteur extracellulaire du sang et des liquides intersticiels des vertébrés est, pour sa part, maintenu constant par le couple H_2CO_3/HCO_3^-.

Copyrighted material

Énergie et milieu biologique



Les systèmes vivants dépensent de l'**énergie** pour de multiples actions. L'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule est obtenue par **catabolisme**, c'est-à-dire par la dégradation de substrats organiques ou minéraux. La biosynthèse des molécules et des macromolécules, consommatrice d'énergie, constitue l'**anabolisme**. Le catabolisme et l'anabolisme impliquent donc des échanges d'énergie.

1. Caractéristiques générales

Le milieu biologique constitue un **système ouvert** qui échange de la matière et de l'énergie avec le milieu extérieur. Lorsque sa composition reste constante en fonction du temps, il existe un **état stationnaire de non-équilibre**. Dans le milieu vivant, les concentrations de l'état stationnaire sont rarement celles de l'équilibre et les transformations s'effectuent généralement à température quasi-constante. Une caractéristique des réactions du milieu biologique est un déroulement séquentiel permettant des transferts d'énergie dans des conditions isothermes.

Selon la forme sous laquelle se trouve le carbone puisé dans l'environnement par les êtres vivants, on distingue deux types d'organismes :

– les organismes **autotrophes**, pour l'essentiel des organismes photosynthétiques, qui utilisent le dioxyde de carbone et l'énergie lumineuse,

– les organismes **hétérotrophes** qui utilisent le carbone provenant de la dégradation de molécules organiques « riches en énergie » telles le glucose.

2. Enthalpie libre

En considérant que les cellules vivantes maintiennent leurs constituants à une concentration constante dans le temps (homéostasie), la thermodynamique classique peut rendre compte des échanges énergétiques au cours des transformations biochimiques qui s'y opèrent.

2.1. Enthalpie libre de réaction

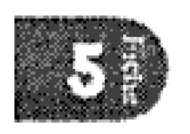
Pour un système chimique, l'énergie maximale récupérable à température et pression constantes est égale à **l'enthalpie libre de réaction $\Delta_r G$**.

Pour la réaction :

$$aA + bB + nH^+ = cC + dD$$

où a, b, n, c et d sont les coefficients stoechiométriques des réactifs et des produits de la réaction. A, B, C et D sont des espèces chimiques neutres ou chargées, et H^+ un proton.

Copyrighted material



L'enthalpie libre de réaction **$\Delta_r G$** de la réaction est :

$$\Delta_r G = \Delta_r G° + R \cdot T \cdot \ln\left[\frac{a_C^c \cdot a_D^d}{a_A^a \cdot a_B^b \cdot a_{H+}^n}\right]$$

– **$\Delta_r G°$** est l'enthalpie libre standard de réaction, c'est-à-dire la valeur de $\Delta_r G$ lorsque toutes les activités des composants du système sont égales à 1,
– R est la constante du gaz parfait ($R = 8{,}31\ J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$),
– T est la température absolue (K),
– a_i est l'activité de l'espèce i.

En milieu biologique, le pH reste constant (généralement voisin de 7). On définit **l'enthalpie libre standard apparente $\Delta_r G°'$** telle que :

$$\Delta_r G°' = \Delta_r G° + R \cdot T \cdot \ln\left[\frac{1}{[H^+]^n}\right]$$

$$\Delta_r G°' = \Delta_r G° + 2{,}3\, n \cdot R \cdot T \cdot pH$$

Le terme « **potentiel de transfert de groupe** » parfois utilisé correspond à ($\Delta_r G°'$).

En solution diluée, les activités sont voisines des concentrations (cf. fiche 4) ; l'équation de l'enthalpie libre de réaction devient :

$$\Delta_r G = \Delta_r G° + R \cdot T \cdot \ln Q_r$$

où Q_r est le **quotient de réaction**. L'expression de Q_r est la suivante :

$$Q_r = \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b \cdot [H^+]^n}$$

2.2. Évolution de la réaction

Une réaction est dite **exergonique** lorsque $\Delta_r G < 0$: à température et pression constantes, elle s'effectue spontanément. Une réaction pour laquelle $\Delta_r G > 0$ est dite **endergonique** ; elle est non spontanée.

Une réaction endergonique ($\Delta_r G_1 > 0$) s'effectue uniquement par couplage avec une réaction exergonique ($\Delta_r G_2 < 0$) si :

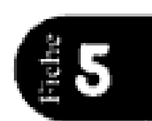
$$\Delta_r G_1 + \Delta_r G_2 < 0$$

Par exemple, dans les conditions standard, la phosphorylation du glucose en position 6 (réaction endergonique) (1) est rendue possible par couplage avec la réaction d'hydrolyse de l'ATP (adénosine tri-phosphate) en ADP (adénosine di-phosphate) (réaction exergonique) (2) :

(1)	Glucose + P_i ⇌ Glucose 6-P + H_2O	$\Delta_r G°'_1 = +16{,}4\ kJ \cdot mol^{-1}$
(2)	ATP + H_2O ⇌ ADP + P_i	$\Delta_r G°'_2 = -32{,}9\ kJ \cdot mol^{-1}$
(1 + 2)	Glucose + ATP ⇌ Glucose 6-P + ADP	$\Delta_r G°' = -16{,}5\ kJ \cdot mol^{-1}$

P_i désigne un groupe phosphate inorganique.

Copyrighted material



À l'équilibre, une réaction est caractérisée par $\Delta_r G = 0$ et $Q_{r,éq} = K_{éq}$.

Ainsi, pour l'exemple considéré, on a à l'équilibre :

$\Delta_r G° = -R \cdot T \cdot \ln K_{éq}$

$\Delta_r G°' = -R \cdot T \cdot \ln K'_{éq}$ où : $K'_{éq} = K_{éq} \cdot a^n_{H^+}$

3. Liaisons riches en énergie

Cette dénomination est réservée aux liaisons entre groupes phosphate (liaisons de type anhydride) comme celles rencontrées dans les molécules d'ATP et d'ADP. Ce terme n'a aucune relation avec l'énergie de liaison (cf. fiche 1).

Le symbole particulier ~ est employé pour désigner la liaison entre groupes phosphates. Ainsi, l'**ATP** est représenté par : **A—R—P~P~P** (A représente l'adénosine, R le ribose et P un groupement phosphate). L'AMP (adénosine mono-phosphate) qui ne renferme qu'une liaison de type ester est représentée par **A—R—P**.

L'hydrolyse de liaisons entre groupes phosphates correspond à une variation d'enthalpie libre importante. Ainsi, l'hydrolyse d'une liaison ~ de l'ATP correspond à $\Delta_r G°' = -32{,}9\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ alors que la réaction d'hydrolyse de la fonction ester de l'AMP s'accompagne d'une variation $\Delta_r G°' = -14{,}2\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

L'ATP est le composé le plus utilisé lors des transferts d'énergie dans la cellule ; synthétisé et dégradé de manière continue (durée de vie de l'ordre de quelques secondes), il n'est pas une molécule de stockage. Deux modes de production de l'ATP à partir de l'ADP sont distingués :

(*i*) la production rapide effectuée à partir des réserves musculaires d'énergie chimique (phosphocréatine, phosphoarginine),

(*ii*) la production lente effectuée à partir des métabolites (glucides, lipides, protides) lors des mécanismes de respiration et de fermentation (cf. fiche19).

Copyrighted material

Fiche 6

Oxydo-réduction

Une réaction d'oxydo-réduction correspond à un échange d'électrons. De nombreuses réactions biologiques sont des réactions d'oxydo-réduction.

1. Définitions

L'**oxydation** correspond à une perte d'électrons et la **réduction** à un gain d'électrons.

Le réactif qui gagne des électrons est l'**oxydant**. Le réactif donneur d'électrons est le **réducteur**. En solution aqueuse, les électrons libres n'existent pas ; une réaction d'**oxydo-réduction** se caractérise donc par un transfert d'électrons entre deux réactifs.

Deux espèces chimiques forment un **couple oxydant/réducteur** lorsque le passage de l'une à l'autre s'effectue par un échange d'électrons selon l'équation :

$$Ox + ne^- = Red$$

Un couple oxydant/réducteur est aussi appelé **couple redox** ; par convention, il est noté Ox/Red. L'oxydant (forme oxydée) et le réducteur (forme réduite) sont dits **conjugués**. L'équation précédente correspond à une demi-réaction puisqu'il ne peut pas exister d'électron libre en solution aqueuse. La demi-réaction directe (de gauche à droite) est une **réduction** ; la réaction inverse (de droite à gauche) est une **oxydation**.

Les entités concernées peuvent être des atomes, des ions mono- ou polyatomiques, des molécules.

$$Fe^{3+}(aq) + e^- = Fe^{2+}(aq)$$

$$I_2(aq) + 2e^- = 2I^-(aq)$$

$$MnO_4^-(aq) + 8H^+(aq) + 5e^- = Mn^{2+}(aq) + 4H_2O\ (l)$$

2. Réaction d'oxydo-réduction

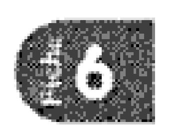
Toute réaction d'oxydo-réduction en solution acqueuse implique l'interaction de deux couples redox Ox_1/Red_1 et Ox_2/Red_2 dont les demi-réactions sont :

$$Ox_1 + n_1e^- = Red_1$$
$$Ox_2 + n_2e^- = Red_2$$

La réaction globale est la combinaison des deux demi-réactions qui fait disparaître les électrons de l'équation-bilan :

$$n_2Ox_1 + n_1Red_2 \rightarrow n_2Red_1 + n_1Ox_2$$

Copyrighted material



Ainsi, par exemple, la réaction entre les ions permanganate (MnO_4^-) et les ions ferreux (Fe^{2+}) en milieu acide est la combinaison des deux demi-réactions suivantes :

$$Fe^{3+}(aq) + e^- = Fe^{2+}(aq)$$

$$MnO_4^-(aq) + 8H^+(aq) + 5e^- = Mn^{2+}(aq) + 4H_2O(l)$$

selon :

$$MnO_4^-(aq) + 8H^+(aq) + 5Fe^{2+}(aq) \rightarrow Mn^{2+}(aq) + 4H_2O(l) + 5Fe^{3+}(aq)$$

3. Évolution d'un système constitué de 2 couples rédox

A toute réaction d'oxydo-réduction est associé un **quotient de réaction Q_r** (cf. fiche 5). Un système hors d'équilibre évolue vers un état d'équilibre pour lequel $Q_{r,éq} = K$. La constante d'équilibre K ne dépend que de la température. En fonction de la valeur initiale du quotient de réaction $Q_{r,i}$, l'évolution du système est différente :

$Q_{r,i} < K$: évolution dans le sens direct,

$Q_{r,i} = K$: pas d'évolution,

$Q_{r,i} > K$: évolution dans le sens indirect.

4. Potentiel d'électrode et loi de Nernst

Le potentiel d'électrode E d'un couple redox Ox/Red correspond à sa capacité à capter les électrons. Il est donné par la relation de Nernst :

$$E = E° + \frac{R \cdot T}{n \cdot \mathcal{F}} \cdot \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$$

où E° est le potentiel standard, c'est-à-dire le potentiel par rapport à l'électrode standard à hydrogène (choisi égal à 0,00 V quelle que soit la température), R la constante du gaz parfait ($R = 8{,}31\,J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$), T la température absolue, n le nombre d'électrons échangés et $\mathcal{F}$ le Faraday ($1\mathcal{F} = 96\,500\ C \cdot mol^{-1}$). E et E° sont exprimés en Volts.

En solution diluée, on peut assimiler activité et concentration (cf. fiche 4) :

$$E = E° + \frac{R \cdot T}{n \cdot \mathcal{F}} \cdot \ln \frac{[Ox]}{[Red]}$$

$$E = E° + \frac{2{,}3 \cdot R \cdot T}{n \cdot \mathcal{F}} \cdot \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

Ce qui donne, à 25°C :

$$E = E° + \frac{0{,}06}{n} \cdot \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

La différence de potentiel entre deux couples redox est évidemment égale à la différence de leur potentiel d'électrode. Lorsqu'on mélange les deux couples, une réaction se produit entre la forme oxydée du couple de plus haut potentiel et la forme réduite du second couple.

Copyrighted material

5. Systèmes redox sensibles au pH

De nombreux systèmes redox biologiques font intervenir des ions H^+. Par exemple, pour le couple de la nicotinamide adénine dinucléotide, $NAD^+/NADH$:

$$NAD^+(aq) + H^+(aq) + 2e^- = NADH(aq)$$

on a:

$$E = E° + \frac{2,3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot \mathcal{F}} \cdot \log \frac{[NAD^+] \cdot [H^+]}{[NADH]}$$

À 37° C et pH = 7,0, le potentiel de l'électrode à hydrogène est égal à – 0,44 V et le rapport $\frac{2,3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot \mathcal{F}}$ est égal à 0,031. D'où :

$$E = (E° - 0,031\, pH) + 0,031 \log \frac{[NAD^+]}{[NADH]}$$

et :

$$E = (E° - 0,22) + 0,031 \log \frac{[NAD^+]}{[NADH]}$$

6. Énergie électrique

L'échange de n moles d'électrons entre deux couples redox correspond à une énergie électrique W :

$$W = -n \cdot \mathcal{F} \cdot \Delta E$$

ΔE est la différence entre les potentiels redox des deux couples. Dans le système d'unités international, W est exprimée en joules (J).

Un grand nombre de réactions biologiques implique des échanges d'électrons ; cette énergie peut servir à effectuer un travail mécanique (muscle), un transfert de matière (osmose) ou une synthèse chimique.

Copyrighted material

PARTiE II

Principaux composés biochimiques



Copyrighted material

Fiche 7 Les protéines (1) Généralités

Les protéines sont composées principalement de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote ; elles peuvent également comporter du soufre et du phosphore. Elles sont constituées d'une séquence d'**acides α-aminés,** ou **α-aminoacides**. Selon la masse molaire de ces molécules, on distingue :

- les **peptides** composés d'un nombre d'α-aminoacides inférieur à 100,
- les **protéines,** composées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques renfermant un grand nombre d'α-aminoacides. Ces molécules volumineuses sont non dialysables.

Les protéines représentent le second constituant cellulaire après l'eau. Les fonctions biologiques des protéines sont extrêmement diverses ; elles assurent les fonctions physiologiques essentielles à la cellule et ont aussi un rôle structural.

1. Les acides aminés

1.1. Différents types d'acides aminés

Les acides α-aminés ont pour formule générale $R-CH(NH_2)-COOH$. Ils diffèrent par la nature du radical « R » ou **chaîne latérale** et sont au nombre de vingt à entrer dans la composition des protéines (Annexe 1). Par ailleurs, un certain nombre d'acides aminés naturels n'existe pas dans les protéines ; ce sont des β, γ, δ – aminoacides ou des dérivés des α-aminoacides.

1.2. Propriétés des acides aminés

À l'exception de la glycine (ou glycocolle) de formule $H_2C(NH_2)-COOH$, le carbone en position α de la fonction acide carboxylique est un carbone asymétrique (cf. fiche 2). Les cellules eucaryotes synthétisent et utilisent uniquement les α-aminoacides de la série L. Les acides α-aminés possèdent à la fois des propriétés acide (fonction carboxyle) et basique (fonction amine) : ce sont donc des ampholytes. Ainsi, leur mise en solution entraîne la formation du **zwitterion** : $R-CH(NH_3^+)-COO^-$. Le zwitterion représente l'espèce de charge globale nulle et constitue l'espèce majoritaire au pH isoélectrique (pI). Pour les aminoacides possédant plusieurs groupes fonctionnels, on appelle pH isoélectrique celui pour lequel la charge globale est nulle.

En milieu aqueux et en fonction de l'acidité du milieu, on observe les équilibres successifs :

$$\underset{AH_2^+}{R-CH(NH_3^+)-COOH} \underset{+H^+}{\overset{-H^+}{\rightleftharpoons}} \underset{AH^{\pm}}{R-CH(NH_3^+)-COO^-} \underset{+H^+}{\overset{-H^+}{\rightleftharpoons}} \underset{A^-}{R-CH(NH_2)-COO^-}$$

Copyrighted material

En fonction des propriétés de leur chaîne latérale, les 20 acides aminés sont regroupés en différentes classes. Ils présentent des propriétés physico-chimiques différentes liées à la nature de leur chaîne latérale. On distingue les acides aminés **aliphatiques, aromatiques, chargés** et **non chargés**.

2. Les peptides

Un peptide est un **enchaînement linéaire** d'acides α-aminés associés par des liaisons peptidiques : une fonction amide est formée par réaction entre le groupe carboxyle d'un acide α-aminé et le groupe amine d'un second acide α-aminé avec élimination d'une molécule d'eau. La formation de la liaison peptidique ou liaison amide est décrite selon l'équation bilan simplifiée de la figure 1. *In vivo*, ceci implique de nombreuses réactions de protection de fonction afin de respecter l'enchaînement déterminé des acides aminés.

$$R_1-CH(NH_2)-C(=O)-OH + R_2-CH(NH_2)-COOH \rightarrow R_1-CH(NH_2)-\boxed{C(=O)-NH}-CH(R_2)-COOH + H_2O$$

liaison peptidique

Fig. 1 – Bilan simplifié de la formation d'une liaison peptidique.

Dans un peptide, l'enchaînement des unités est représenté avec l'orientation suivante :

$$NH_3^+-CH(R_1)-CONH-CH(R_2)-CONH-\ldots-CH(R_n)-COO^-$$

extrémité N-terminale - - - - - - - - - - - → extrémité C-terminale

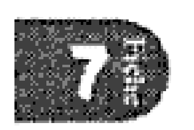
Les chaînes peptidiques sont donc vectorisées et la position des α-aminoacides est indiquée par un chiffre ; l' α-aminoacide 1 est celui correspondant à l'extrémité N-terminale.

À partir d'un petit nombre d'acides α-aminés, un grand nombre de composés caractérisés par leur enchaînement peut être obtenu : théoriquement, 20^n pour des chaînes constituées de n acides α-aminés. Les propriétés du peptide sont essentiellement déterminées par celles des radicaux des α-aminoacides constitutifs.

2.1. Particularité de la liaison peptidique

Dans la liaison peptidique −CO(NH)−, la longueur de la liaison C−N (1,32 Å) est intermédiaire entre celle d'une liaison simple (1,49 Å) et celle d'une liaison double (1,27 Å) en raison de la possibilité de **résonance** sur l'ensemble du motif. D'un point de vue électronique, la liaison peptidique

Copyrighted material



présente une structure intermédiaire entre les deux formes mésomères A et B (figure 2). Les quatre atomes du motif de la liaison peptidique sont coplanaires ; la libre rotation autour de la liaison C—N est impossible.

Fig. 2 – Formes mésomères de la liaison peptidique.

2.2. Peptides d'intérêt biologique

Un certain nombre de peptides joue un rôle clé dans l'ensemble des processus cellulaires. C'est par exemple le cas des oligopeptides comme la carnosine (dipeptide) et le glutathion (tripeptide) (figure 3), des hormones de petite taille (insuline, glucagon, thyrocalcitonine, vasopressine, etc.), des médiateurs (angiotensines, kinines) et des neurotransmetteurs.

Notons aussi des immunosuppresseurs, les cyclosporines et des antibiotiques peptidiques tels la tyrocidine et la colimycine.

Des antibiotiques, produits par des microorganismes, comportent des acides aminés de la série D ou des acides aminés de la série L absents des protéines humaines.

Fig. 3 – Glutathion (tripeptide γ Glu – Cys – Gly).

3. Les protéines

3.1. Généralités

Les protéines sont des substances de masse molaire élevée qui ont des fonctions très diverses ; par exemple, un rôle structural, enzymatique, ou de messager. On distingue les **holoprotéines** constituées uniquement d'α-aminoacides et les **hétéroprotéines** comprenant également des molécules non protéiques (groupements prosthétiques). À l'exception des protéines membranaires, la plupart des protéines sont solubles ; leur solubilité est fortement influencée par divers facteurs comme le pH, la température ou la force ionique.

Copyrighted material



Leur masse molaire s'exprime en kilodalton, kDa ($1 Da = 1 g \cdot mol^{-1}$). La masse molaire est un multiple de la masse molaire minimale M_{min} qu'il est possible de déterminer en dosant un constituant (atome, acide aminé) en faible proportion :

$$M_{min} = \frac{M_{constituant} \cdot 100}{\% \text{ du constituant}}$$

Ainsi, la myoglobine et l'hémoglobine renferment le même pourcentage de fer (0,335%) et ont même $M_{min} = 16\ 700$ kDa. La masse molaire peut être déterminée directement par des méthodes physiques (pression osmotique, ultracentrifugation, spectrométrie de masse).

Les propriétés physico-chimiques des protéines résultent essentiellement des groupements fonctionnels des chaînes latérales.

3.2. Différentes classes d'hétéroprotéines

Selon la nature du groupement prosthétique, différentes classes d'hétéroprotéines sont distinguées :

- les **phosphoprotéines** qui sont des esters phosphoriques des protéines. Elles peuvent constituer (*i*) des éléments de structure ou de contrôle, (*ii*) des substances de réserve (caséine du lait), (*iii*) des catalyseurs enzymatiques.
- les **chromoprotéines** dont le groupement prosthétique renferme un ion métallique et qui sont colorées. Les principales sont les hémoglobines, les myoglobines, les cytochromes, les enzymes héminiques (catalases, peroxydases) et les métalloprotéines (métalloenzymes ou complexes métal-protéine).
- les **glycoprotéines** qui comportent une ou plusieurs séquences glucidiques (1 à 800) ; elles se rencontrent dans les membranes (agglutinogènes des groupes sanguins), les tissus, le plasma (orosomucoïde, haptoglobine, immunoglobulines). Elles peuvent être par exemple des hormones ou des enzymes.
- les **lipoprotéines** dont les principales servent au transport des lipides dans le plasma.

Copyrighted material

Fiche 8

Les protéines (2) Structure

Une protéine est un enchaînement linéaire d'acides α-aminés reliés par des liaisons peptidiques. La chaîne polypeptidique adopte une forme spécifique, un arrangement tridimensionnel, dans lequel interviennent trois ou quatre niveaux d'organisation.

1. Structure primaire

L'enchaînement linéaire par liaisons peptidiques des acides α-aminés constitue la structure primaire de la protéine. La **séquence** en acides aminés est déterminée par le **code génétique**. Le remplacement d'un seul acide α-aminé de la séquence par un autre possédant des propriétés différentes peut aboutir à une anomalie de la protéine. La structure primaire de la protéine est essentielle. Pour illustrer ce fait, citons l'exemple de l'hémoglobine, protéine complexe comportant 4 chaînes peptidiques (2 chaînes α et 2 chaînes β) et 4 hèmes (groupements prosthétiques) ; le remplacement de l'acide glutamique (polaire et chargé) en position 6 sur les chaînes β par une valine (hydrophobe) est responsable d'une pathologie, la drépanocytose ou anémie falciforme.

2. Structure secondaire

La structure secondaire d'une protéine fait référence à des régions de repliement régulier de la chaîne polypeptidique. Elle résulte des caractéristiques de la liaison peptidique dont la géométrie est caractérisée par deux plans et deux angles de rotation (Φ et Ψ) autour de l'atome de carbone C_α d'un aminoacide (figure 1). Certaines valeurs des angles permettent l'établissement de structures ordonnées stabilisées par différentes interactions dont des liaisons hydrogène. Des études cristallographiques par rayons X ont mis en évidence deux types de structure secondaire : l'**hélice α** et le **feuillet plissé β**.

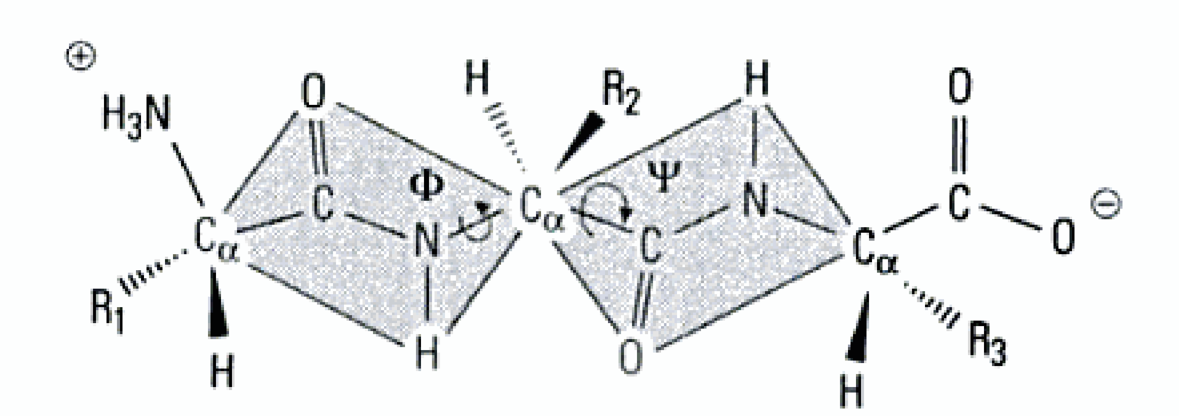


Fig. 1 – Chaîne peptidique – Les deux angles Φ (autour de la liaison $C_\alpha-N$) et Ψ (autour de la liaison $C_\alpha-C$) définissent les positions relatives des plans des deux liaisons peptidiques. Les rotations sont limitées par l'encombrement stérique.

Copyrighted material

2.1. Hélice α

Cette structure s'établit à partir d'un seul polypeptide. La chaîne peptidique s'enroule autour d'un axe, en **hélice dextrogyre** (figure 2A) ; le sens d'enroulement de cette structure hélicoïdale est déterminé par la présence d'acides aminés de la série L. Tous les radicaux sont à l'extérieur de l'hélice. Le pas de l'hélice est de 5,4 Å avec 3,6 résidus d'acides aminés par tour. Les liaisons hydrogène **intracaténaires** qui peuvent s'établir entre l'oxygène d'une liaison peptidique en position **n** et l'hydrogène lié à l'azote de la liaison peptidique en position **(n + 4)** sont presque parallèles à l'axe de l'hélice et stabilisent la structure. La représentation schématique conventionnelle est une hélice ou un **cylindre** (figure 2B).

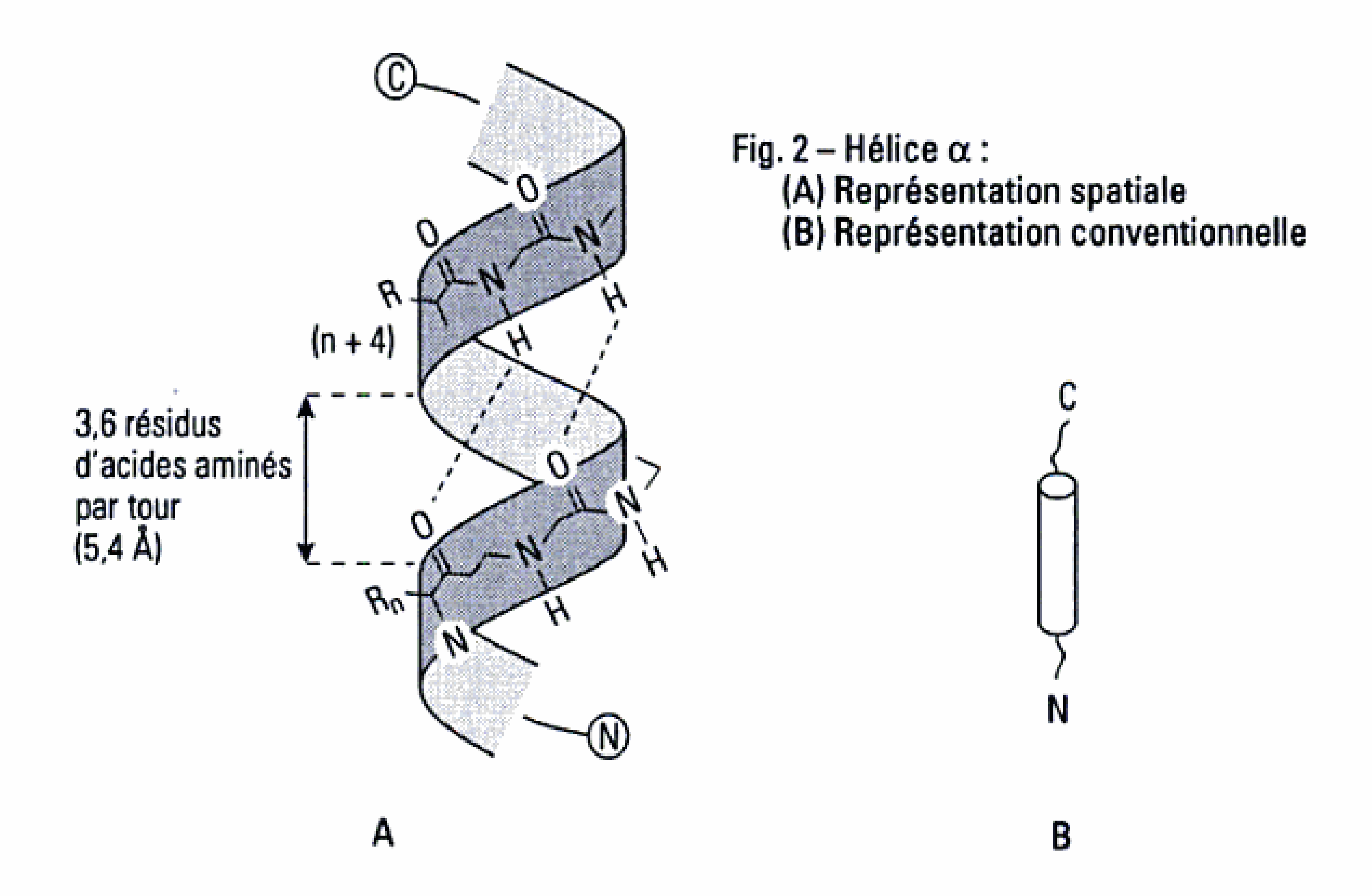


Fig. 2 – Hélice α :
(A) Représentation spatiale
(B) Représentation conventionnelle

2.2. Feuillet plissé β

Cette structure résulte du repliement d'une chaîne polypeptidique et de l'agencement de plusieurs chaînes repliées qui ont soit la même orientation (feuillet β parallèle) soit des orientations opposées (feuillet β antiparallèle) (figure 3A). Des liaisons hydrogène de même nature que dans l'hélice α s'établissent perpendiculairement à l'axe du feuillet β. Les radicaux R sont alternativement au-dessus et au-dessous du plan moyen du feuillet β. La représentation conventionnelle d'un feuillet plissé β est une **flèche** orientée vers l'extrémité C-terminale (figure 3B). Les replis, **coudes**, sont constitués d'un court segment peptidique de deux à quatre résidus stabilisé par des liaisons hydrogène entre le premier et le dernier résidu.

Copyrighted material

Plans des liaisons peptidiques

Fig. 3 – Feuillet β antiparallèle :
(A) Représentation spatiale – (B) Représentation conventionnelle

2.3. Stabilité de la structure secondaire

La stabilité de la structure secondaire est influencée par différents facteurs :

- la présence de proline, molécule comportant un cycle qui introduit un angle dans la structure et qui ne peut établir de liaison hydrogène (figure 4),

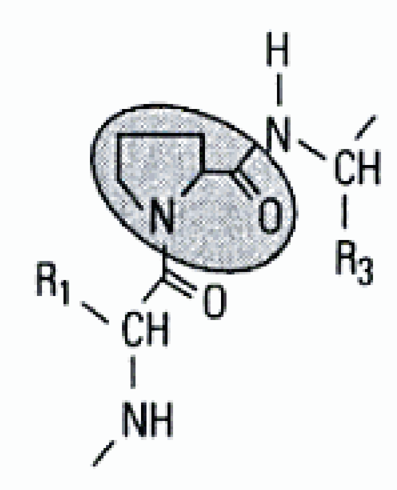
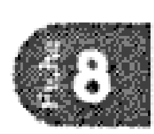


Fig. 4 – Coude induit par la présence de proline.

- la dénaturation (rupture des liaisons hydrogène) par la chaleur ou par un agent chimique dénaturant (urée),
- la modification du pH.

La structure secondaire peut présenter une succession d'hélices α et de feuillets plissés β séparés par des zones lâches, les **boucles** (figure 5) ; celles-

Copyrighted material



ci permettent l'établissement d'interactions entre structures différentes conduisant à une **structure super-secondaire,** le **motif.**

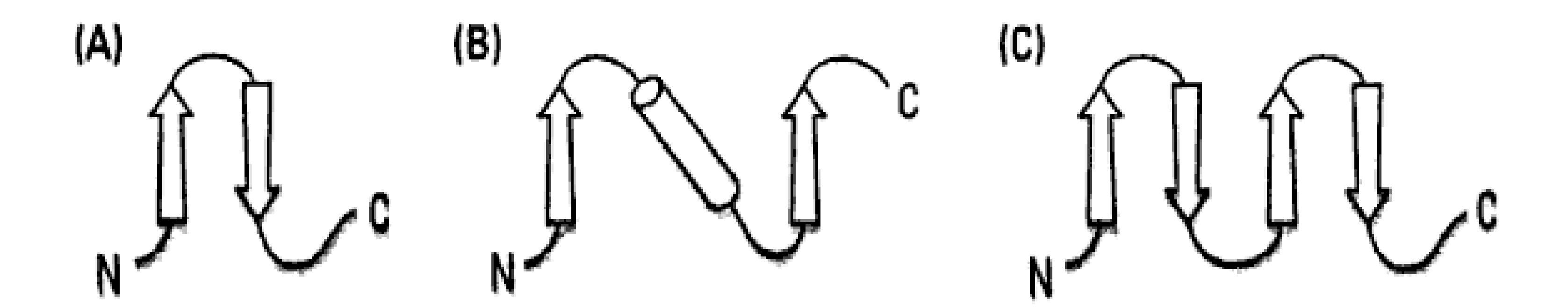


Fig. 5 – Structures super-secondaires ou motifs :
(A) Structure β-β ou motif en épingle à cheveux (2 feuillets β antiparallèles)
(B) Structure β-α-β (2 feuillets β parallèles, une hélice α)
(C) Disposition de 4 feuillets β antiparallèles

3. Structure tertiaire

Dans une protéine, la structure tertiaire décrit l'arrangement tridimensionnel de tous les acides aminés situés dans la chaîne polypeptidique. Il s'agit d'une conformation native, biologiquement active, maintenue par de multiples liaisons essentiellement non covalentes et principalement construites à partir des radicaux des aminoacides (figure 6). Citons par ordre de stabilité décroissante :

– des liaisons covalentes par pont disulfure entre deux résidus cystéine,
– des interactions électrostatiques entre groupements de charges opposées ($-NH_3^+$ et $-COO^-$),
– des liaisons hydrogène,
– des interactions de van der Waals entre radicaux hydrophobes.

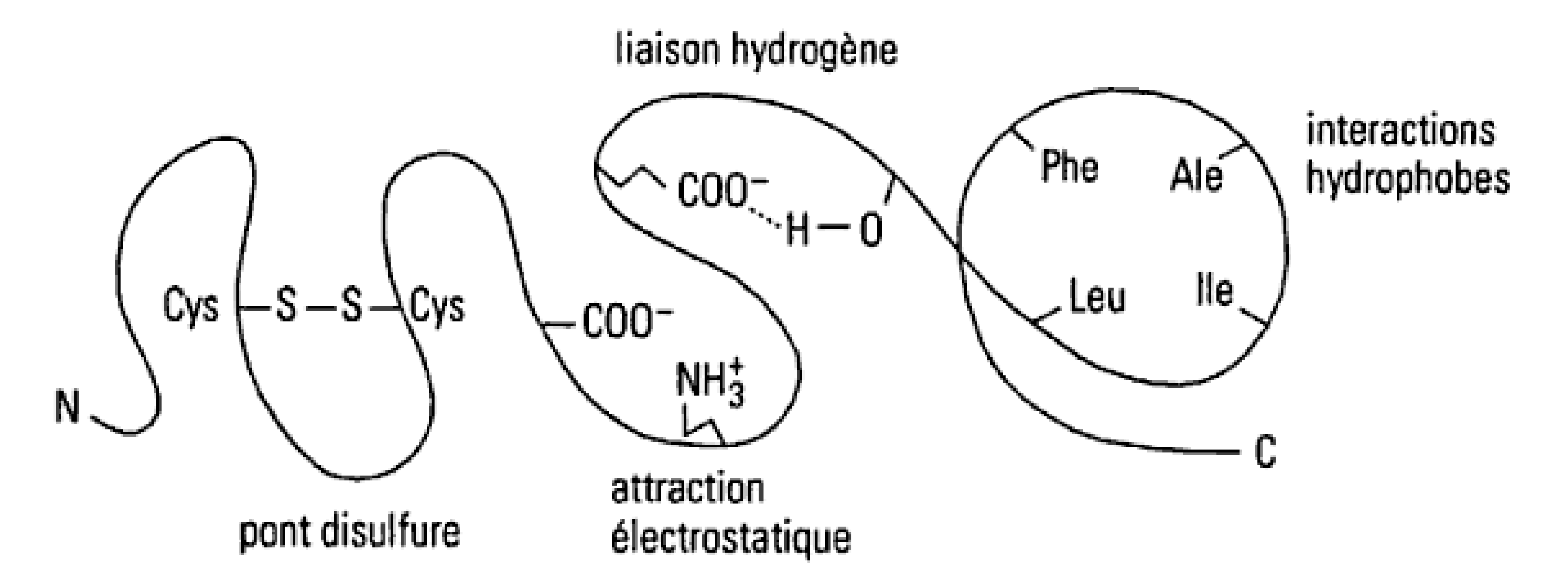


Fig. 6 – Stabilisation de la stucture tertiaire.

La majorité des liaisons stabilisant la structure tertiaire sont des liaisons faibles. La stabilité de cette structure résulte de leur grand nombre et implique

Copyrighted material

des surfaces complémentaires (possibilité de formation de liaisons faibles). La structure tertiaire correspond à l'état d'énergie le plus stable.

On appelle **domaine** un arrangement tertiaire parfaitement déterminé, par exemple deux motifs β-α-β et deux motifs en épingle à cheveux (β-β antiparallèles) (figure 7).

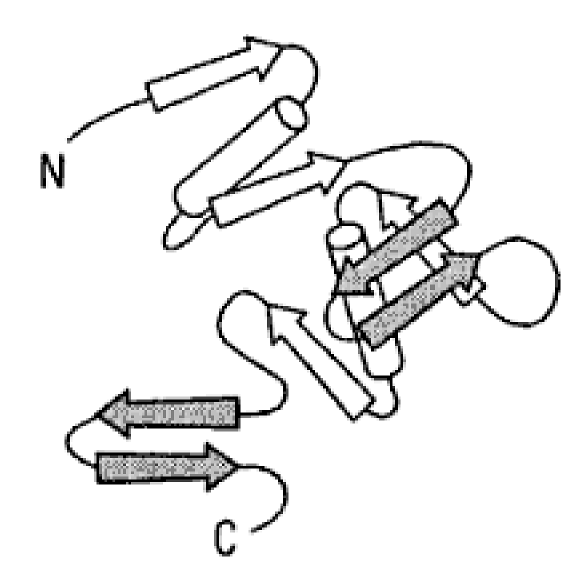


Fig. 7 – Domaine ou arrangement tertiaire.

Des protéines peuvent contenir plus d'une chaîne polypeptidique. Des polypeptides à structure secondaire homogène peuvent s'associer parallèlement pour constituer des **protéines fibreuses** ; ce sont par exemple les cas

(*i*) de la kératine des poils résultant de l'agencement d'hélices α,

(*ii*) de la fibroïne de la soie à partir de feuillets β,

(*iii*) du collagène issu de l'association de polypeptides en triple hélice différant de l'hélice α.

D'autres types d'associations de polypeptides peuvent constituer des **protéines globulaires** ; on peut citer l'exemple de la myoglobine.

4. Structure quaternaire

Il est possible de distinguer un quatrième niveau de structure protéique pour les protéines contenant plus d'une chaîne polypeptidique. La structure quaternaire est l'arrangement spatial des différentes **sous-unités** polypeptidiques (**protomères**) avec la description des interactions qui les lient. Les interactions entre les sous-unités sont de même nature que les interactions à l'intérieur des chaînes (covalentes ou non). La dissociation de ces assemblages est réversible. L'hémoglobine est un exemple de protéine possédant une structure quaternaire : elle est composée de quatre chaînes polypeptidiques (figure 8) dont chacune possède une structure tridimensionnelle. Les chaînes polypeptidiques sont identiques deux à deux : deux chaînes α comportant 141 acides aminés et deux chaînes β en comportant 146. Chaque chaîne contient un groupement posthétique hème. La structure secondaire est uniquement composée d'hélices α.

C'est la structure quaternaire qui détermine la fonction de la protéine.

Copyrighted material

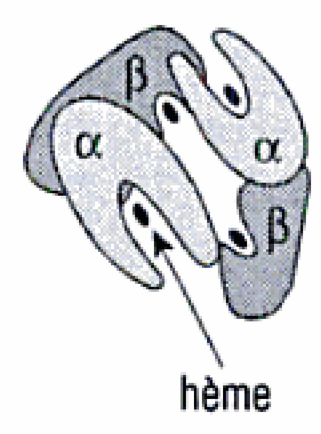


Fig. 8 – Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine.

5. Effets allostériques

Les protéines peuvent s'associer entre elles ou avec d'autres entités. Ces associations résultent de la formation de liaisons faibles au niveau de deux surfaces complémentaires. Dans une telle association, la conformation d'une partie de la protéine peut changer permettant l'interaction qui était impossible à l'état natif avec une autre molécule ; on parle d'effets allostériques (figure 9). L'**effecteur allostérique,** initiant le changement de conformation, peut être un **activateur** ou un **inhibiteur** de la réaction dans laquelle il est impliqué.

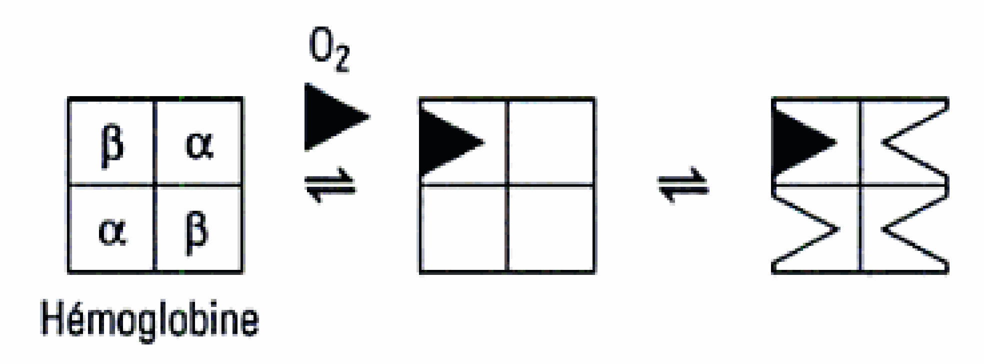


Fig. 9 – Exemple d'effet allostérique : en se fixant sur l'hémoglobine, le dioxygène (O_2) modifie la conformation de cette protéine. L'hémoglobine peut alors interagir avec une autre molécule de O_2.

Copyrighted material



Les protéines (3) Méthodes d'analyse

L'identification d'une protéine est souvent une tâche délicate car cette protéine n'est que l'une des très nombreuses présentes dans une cellule. L'identification commence par celle des α-aminoacides constitutifs.

1. Mise en évidence des α-aminoacides

La mise en évidence d'un α-aminoacide isolé s'effectue aisément par une réaction colorimétrique avec la **ninhydrine** (figure 1) qui donne une coloration violette avec les amines primaires alors qu'elle donne une coloration jaune avec les amines secondaires. L'analyse d'un mélange d'acides aminés nécessite la mise en œuvre de méthodes de séparation : la chromatographie ou l'électrophorèse.

Fig. 1 – Révélateur des aminoacides : la ninhydrine.

1.1. Chromatographie de partage

Elle repose sur l'extraction par une phase organique non-miscible des aminoacides contenus dans une phase aqueuse. Le support (papier ou cellulose) comporte la phase stationnaire aqueuse ; le solvant organique constitue la phase mobile. Chaque aminoacide est caractérisé par sa vitesse de déplacement sur le support : on désigne par R_f le rapport entre les distances parcourues par l'aminoacide (d_{AA}) et par le front de la phase mobile (d_s) (figure 2). La révélation s'effectue par coloration à la ninhydrine, dans des conditions de température élevée. Des chromatographies bidimensionnelles peuvent être réalisées en effectuant une seconde migration avec un solvant différent perpendiculairement à la précédente.

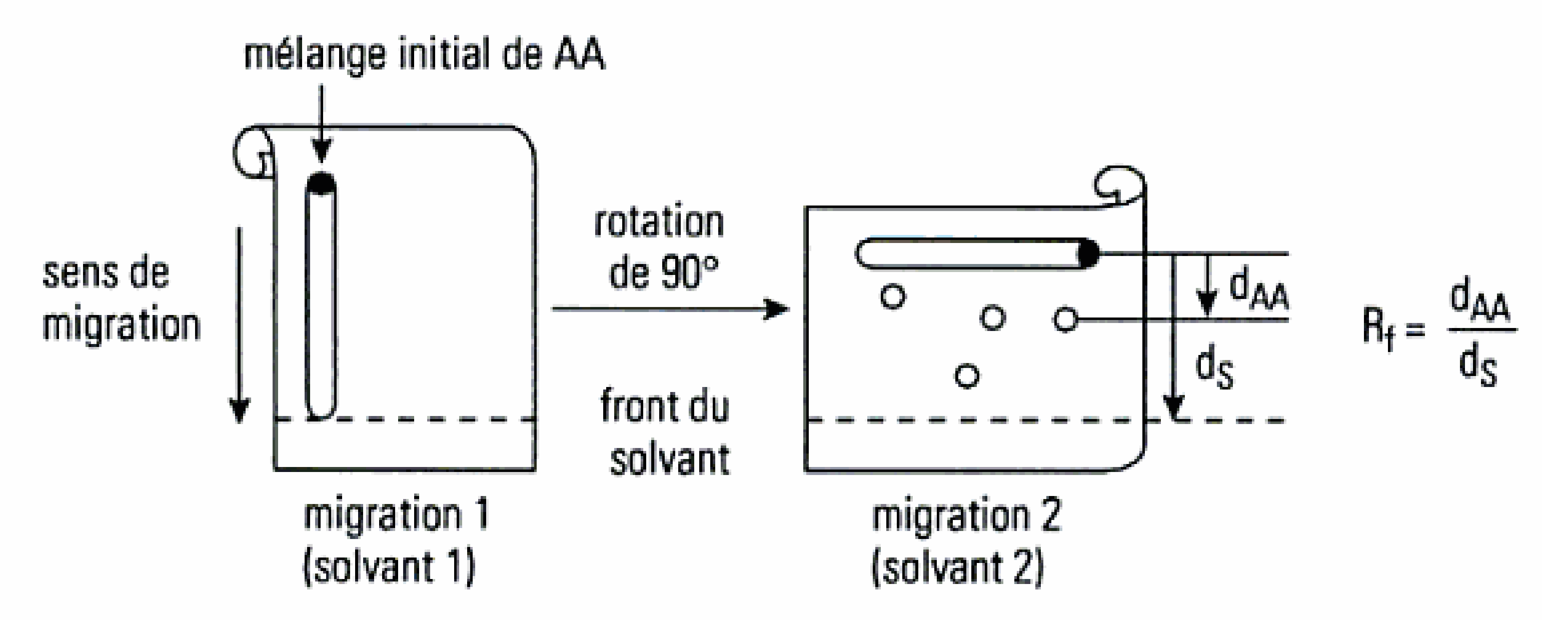


Fig. 2 – Principe de la chromatographie de partage pour l'identification d'acides aminés (AA).

Copyrighted material

1.2. Chromatographie sur résine échangeuse d'ions

Dans une chromatographie d'échange d'ions, les ions sont séparés selon leur charge électrique globale. Les résines utilisées sont des polymères comportant une fonction acide neutralisée sous forme de sel de sodium $R{-}SO_3^-$, Na^+. En milieu acide (pH = 3,0), l'aminoacide est sous forme cationique (cf. fiche 7). L'échange de cations a lieu entre l'ion sodium Na^+ et l'aminoacide (figure 3). L'élution s'effectue au moyen de solutions tampons de pH croissant. La libération de l'aminoacide se produit pour (pH = pI). On réalise ensuite une révélation à la ninhydrine et un dosage spectrophotométrique.

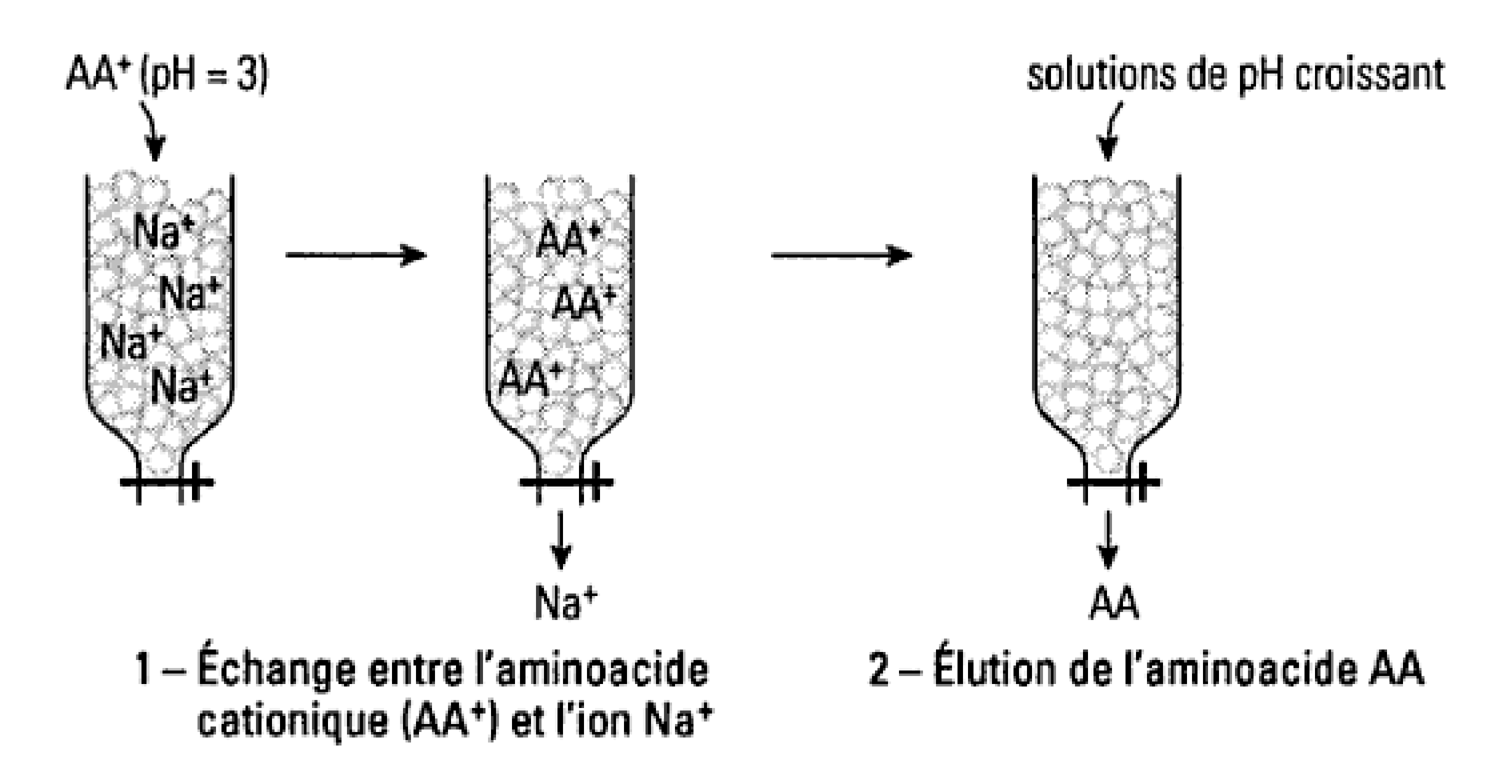


Fig. 3 – Principe de la chromatographie sur résine échangeuse d'ions pour la séparation d'acides aminés.

1.3. Électrophorèse

Les aminoacides peuvent être séparés par action d'un champ électrique en utilisant leur différence de charge à un pH déterminé. Le support est une feuille de papier filtre ou de cellulose. Les anions migrent vers le pôle positif, les cations vers le pôle négatif ; la vitesse de migration est proportionnelle à la charge de l'acide aminé (figure 4). Une révélation à la ninhydrine est ensuite réalisée.

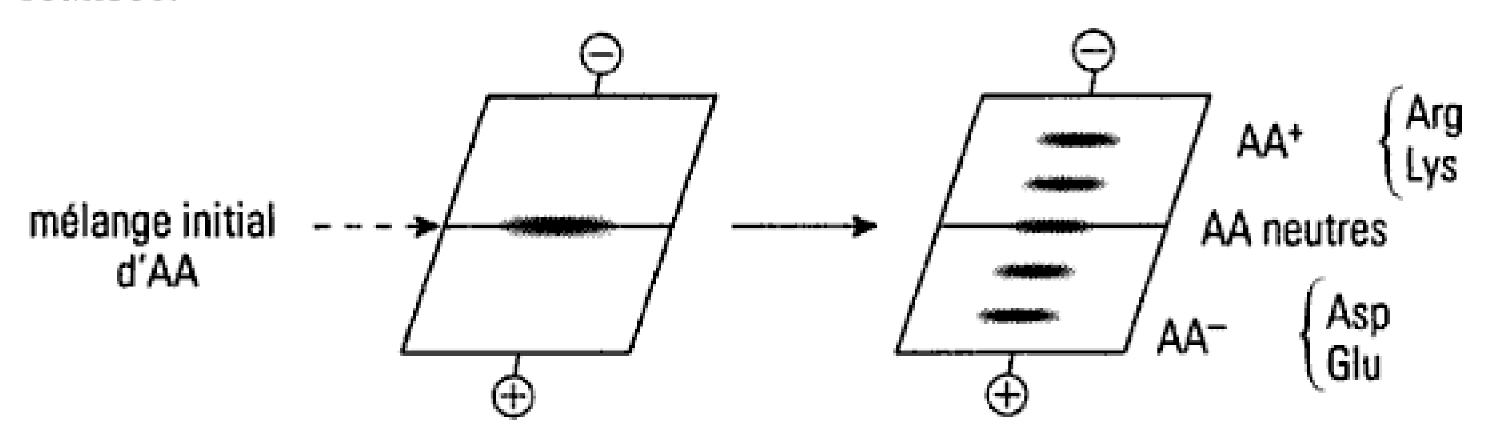


Fig. 4 – Principe de l'électrophorèse pour l'identification d'acides aminés : sous l'action d'un champ électrique, les acides aminés cationiques (AA^+) migrent vers le pôle négatif, les anioniques (AA^-) vers le pôle positif.

Copyrighted material

2. Séquençage des peptides et des protéines

2.1. Peptides

La détermination de la structure primaire d'un peptide consiste à identifier la **séquence** (enchaînement) des acides aminés qui le composent. La première séquence peptidique identifiée a été celle de l'insuline (51 acides aminés) ; cette séquence a été décrite par Sanger. La **méthode de séquençage de Sanger** est applicable aux petits polypeptides. Elle repose sur la dégradation séquentielle de la chaîne peptidique, acide aminé par acide aminé, à partir de l'extrémité N-terminale ; elle consiste en une condensation de la chaîne peptidique avec le 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) en milieu alcalin, suivie d'une hydrolyse en milieu acide (figure 5A). La **méthode de Gray et Hartley,** 100 fois plus sensible que celle de Sanger, utilise comme marqueur le chlorure de dansyle (méthode DNS- aminoacide) (figure 5B).

NO_2 ; NO_2 ; F

(A) Réactif de Sanger :
2,4 – dinitrofluorobenzène (DNFB)

H_3C – N – CH_3 ; SO_2Cl

(B) Réactif de Gray et Hartley :
chlorure de dansyle (DNS)

Fig. 5 – Réatifs de séquençage des peptides.

2.2. Identification des protéines

– **Séparation des protéines**

Afin d'identifier une protéine, il est nécessaire de la séparer du reste d'un mélange initial complexe. Plusieurs procédés peuvent être utilisés :

– la dialyse avec une membrane hémiperméable,

– la différence de solubilité : les protéines globulaires sont solubles en solution saline diluée alors que les protéines fibreuses ne le sont pas,

– l'ultracentrifugation (différentielle, en gradient de densité préformé ou en gradient de densité à l'équilibre) qui permet de séparer des protéines de masses moléculaires très différentes,

– l'action d'un champ électrique (électrophorèse à haut voltage),

– la chromatographie en présence d'adsorbants (chromatographie d'exclusion ou sur colonne échangeuse d'ions),

Copyrighted material

– la chromatographie d'affinité qui correspond à l'affinité biologique pour un ligand spécifique.

– Détermination de la structure primaire des protéines

La séquence d'une protéine en acides aminés peut être déterminée par la dégradation d'**Edman** qui progresse séquentiellement d'acide aminé en acide aminé à partir de l'extrémité N-terminale. La méthode d'Edman ou méthode au phénylisothiocyanate (PTH) (figure 6) est utilisée après clivage de la protéine en polypeptides par des coupures spécifiques :

– après le carboxyle de la méthionine par le bromure de cyanogène,

– après le carboxyle de l'arginine ou de la lysine par la trypsine,

– après le carbonyle de la phénylalanine ou de la tyrosine par la chymotrypsine,

– entre l'arginine et la lysine par l'hydroxylamine.

Les petits peptides résultant des coupures spécifiques peuvent être alors séquencés en utilisant la propriété de condensation de l'acide aminé avec le PTH puis sa libération sous la forme d'un acide aminé cyclique phénylthiohydantoïne (PTH-aminoacide) en milieu acide faible. La séquence complète de la protéine est reconstituée par une analyse des fragments peptidiques chevauchants.

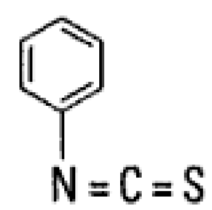


Fig. 6 – Réactif de la dégradation d'Edman : phénylisothiocyanate (PTH).

Copyrighted material

Fiche 10 Les enzymes (1) Rôle catalytique

Dans le système vivant, les réactions chimiques se déroulent dans des conditions déterminées de pression, de température et de pH compatibles avec la vie cellulaire. Les intervalles de variation autorisés pour ces paramètres sont très étroits. Les réactions chimiques ont lieu en présence de **catalyseurs biologiques**, les **enzymes**, qui augmentent la vitesse d'une réaction sans être eux-mêmes modifiés au cours du processus.

1. Constitution et propriétés des enzymes

Tous les enzymes sont des **protéines globulaires** (cf. fiche 8), à l'exception de quelques ARN à activité catalytique. Deux types d'enzymes sont distingués :

(*i*) les **holoenzymes** entièrement protéiques,

(*ii*) les **hétéroenzymes**, composées d'une partie protéique, **l'apoenzyme**, et d'une partie non protéique, **le coenzyme**, de faible poids moléculaire.

Outre le pouvoir catalytique, les enzymes ont comme propriété principale la **spécificité** vis-à-vis d'une réaction chimique déterminée. La spécificité peut être étroite ou large. Ainsi, la *fumarase*, enzyme catalysant l'hydratation de l'acide fumarique est inactive sur son isomère géométrique, l'acide maléique, ce qui illustre un cas de spécificité étroite. Un exemple de spécificité large est constitué par la β-*galactosidase* qui reconnaît l'ensemble des galactosides. Comme tous les catalyseurs, les enzymes accélèrent les réactions directe et inverse sans modification de l'état d'équilibre.

2. Catalyse chimique et catalyse enzymatique

Une réaction chimique implique le passage par un état de transition nécessitant un apport d'énergie, l'**énergie d'activation E_a**. Les catalyseurs, chimiques ou biologiques, diminuent généralement l'énergie d'activation des réactions et permettent ainsi l'augmentation de leur vitesse.

L'hydrolyse de l'urée, réaction exergonique (cf. fiche 5), est très lente à température ordinaire car elle requiert une énergie d'activation importante.

$$(1) \qquad CO(NH_2)_2 + H_2O \rightarrow CO_2 + 2NH_3$$

L'addition d'acide chlorhydrique diminue l'énergie d'activation du système et accélère la réaction ; il s'agit d'une **catalyse chimique**. L'addition d'*uréase*, enzyme spécifique, diminue davantage l'énergie d'activation et permet le déroulement de la réaction dans des conditions compatibles avec la vie cellulaire ; il s'agit d'une **catalyse enzymatique** (figure 1).

Copyrighted material

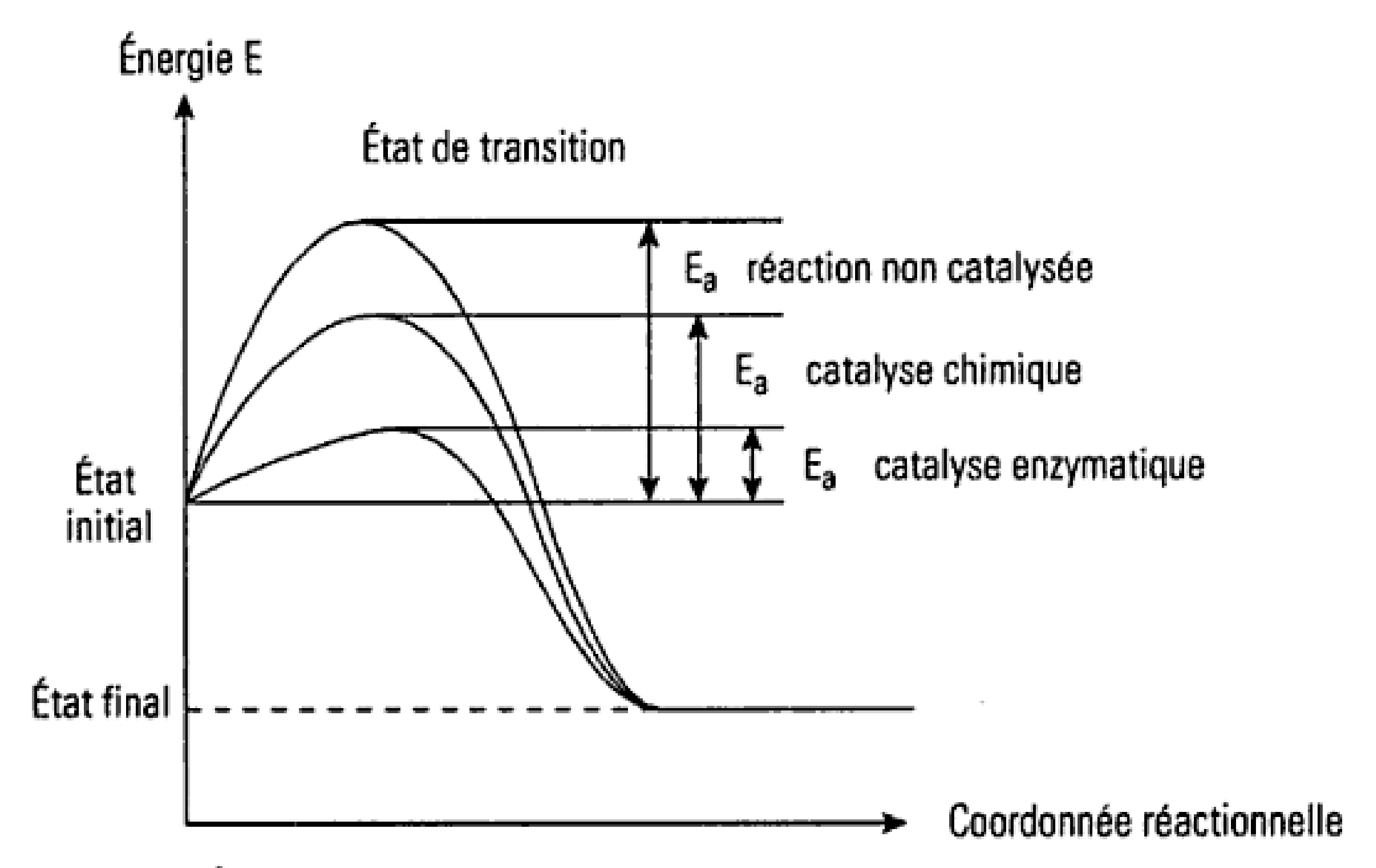


Fig. 1 – Énergies d'activation E_a.

3. Cinétique enzymatique

3.1. Vitesse initiale de réaction

Les études cinétiques déterminent la vitesse des réactions et analysent sa variation en fonction des conditions du milieu.

Considérons la réaction la plus simple d'un **substrat S** transformé en un **produit P**. La vitesse de la réaction v peut s'exprimer en fonction de la disparition du substrat ou de l'apparition du produit (figure 2) :

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = +\frac{d[P]}{dt}$$

où d[S] et d[P] sont respectivement les variations de la concentration du substrat S et celle du produit P pendant l'intervalle de temps dt.

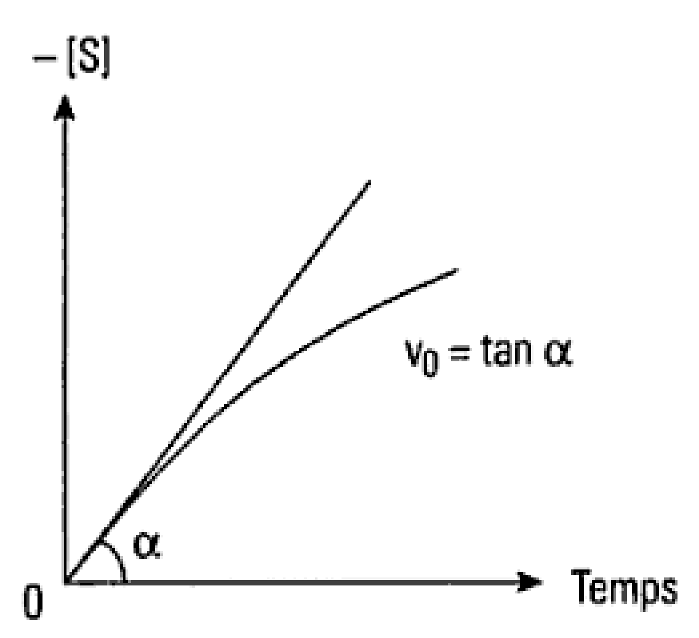
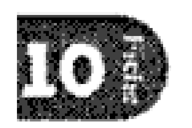


Fig. 2 – Détermination graphique de la vitesse initiale de réaction v_0.

Copyrighted material



On appelle **vitesse initiale v_0** la valeur du coefficient directeur de la tangente à la courbe décrivant la disparition du substrat, ou l'apparition du produit, à l'instant $t = 0$.

En présence de l'**enzyme E**, on constate que :

1) pour de larges excès de substrat, la **vitesse initiale v_0** (ou **vitesse initiale de réaction**) est proportionnelle à la concentration de l'enzyme (figure 3A),

2) pour une concentration donnée de l'enzyme, la vitesse initiale v_0 tend vers une valeur maximale v_{max} lorsque l'on augmente la concentration du substrat qui correspond à la saturation de l'enzyme (figure 3B).

−[S]
$v_{0_1} > v_{0_2} > v_{0_3}$
[E]$_1$
[E]$_2$
[E]$_3$
0
Temps
A

Vitesse initiale
v_{max1}
v_{max2}
v_{max3}
[E]$_1$
[E]$_2$
[E]$_3$
$\frac{v_{max1}}{2}$
$\frac{v_{max2}}{2}$
$\frac{v_{max3}}{2}$
K_m
$[S]_0$
B

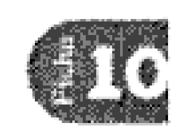
Fig. 3 – Vitesse initiale de réaction et concentration d'enzyme $[E]_1 > [E]_2 > [E]_3$.
(A) Rôle de la concentration d'enzyme, excès de substrat.
(B) À concentration d'enzyme constante, rôle de la concentration initiale du substrat.

Ainsi, pour une réaction enzymatique, ces résultats permettent de formuler un mécanisme reposant sur l'hypothèse de la formation d'un **complexe enzyme-substrat ES** :

$$S + E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P$$

où k_i est la constante de vitesse de la réaction i.

Copyrighted material



3.2. Équation de Michaelis-Menten

L'équation de Michaelis-Menten permet d'exprimer de façon simple la vitesse de réaction v et de déterminer les paramètres caractéristiques de l'enzyme. Dans le modèle de Michaelis-Menten, il est admis que la vitesse de la transformation du produit en complexe ES est négligeable ; ce qui est équivalent à une constante de vitesse k_{-2} très petite.

La vitesse initiale v_0 de formation du produit P s'écrit :

$$v_0 = k_2 \cdot [ES]$$

et la vitesse d'accumulation du complexe ES :

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 \cdot [S] \cdot [E] - (k_{-1} + k_2) \cdot [ES]$$

Comme la concentration totale $[E]_T$ de l'enzyme E est :

$$[E]_T = [E] + [ES]$$

alors : $$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 \cdot [S] \cdot ([E]_T - [ES]) - (k_{-1} + k_2) \cdot [ES]$$

La concentration du complexe ES atteint un **état stationnaire** lorsque $\frac{d[ES]}{dt} = 0$. On a alors :

$$\frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1} = \frac{[S] \cdot ([E]_T - [ES])}{[ES]}$$

La constante $\frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$ est appelée **constante de Michaelis-Menten K_m** ; elle est une mesure de la stabilité du complexe enzyme-substrat.

Ainsi :

$$[ES] = \frac{[E]_T \cdot [S]}{(K_m + [S])}$$

Comme la valeur maximale de [ES] est égale à $[E]_T$, v_0 atteint un maximum v_{max} suivant :

$$v_{max} = k_2 \cdot [E]_T$$

On a : $$v_0 = k_2 \cdot \frac{[E]_T \cdot [S]}{(K_m + [S])}$$

D'où l'équation de Michaelis-Menten :

$$\mathbf{v_0 = \frac{v_{max} \cdot [S]}{(K_m + [S])}}$$

Lorsque $\mathbf{[S] = K_m}$, on a $\mathbf{v_0 = \frac{v_{max}}{2}}$. On en déduit que la constante de Michaelis-Menten correspond à la concentration de substrat pour laquelle la vitesse initiale est la moitié de la vitesse maximum.

Copyrighted material



3.3. Transformations de l'équation de Michaelis-Menten

La fonction $v_0 = f([S])$ de l'équation de Michaelis-Menten étant peu pratique à utiliser, on emploie la représentation de l'inverse de cette fonction ou **représentation de Lineweaver-Burk** :

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right)$$

La représentation de Lineweaver-Burk est une droite qui rencontre l'axe des abscisses en $-\frac{1}{K_m}$ et l'axe des ordonnées en $\frac{1}{v_{max}}$ (figure 4).

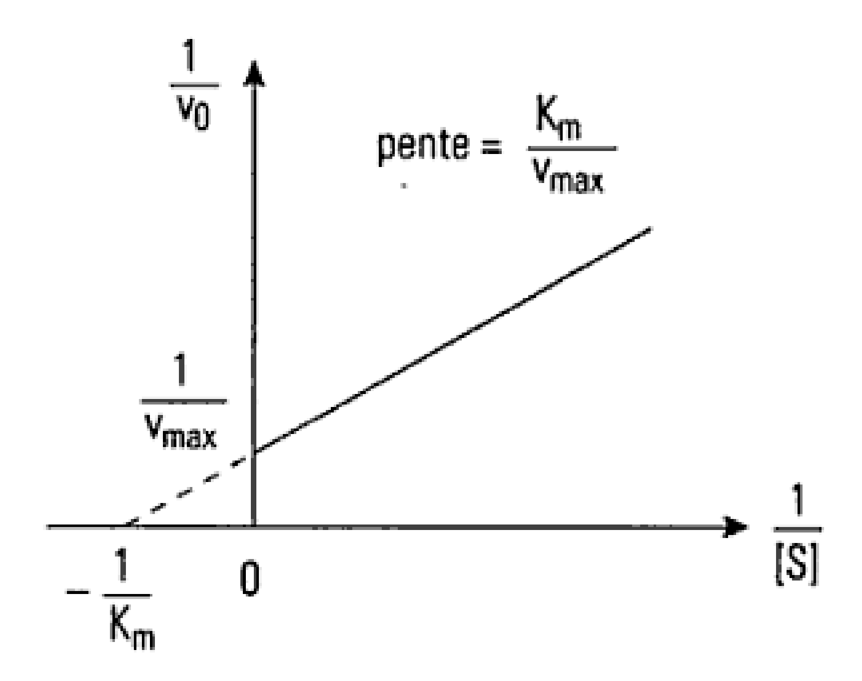


Fig. 4 – Représentation de Lineweaver – Burk.

Un autre type de transformation de l'équation de Michaelis-Menten conduit à la **représentation d'Eadie et Hofstee** :

$$v_0 = v_{max} - \frac{v_0}{[S]} \cdot K_m$$

qui donne v_{max} et K_m (figure 5).

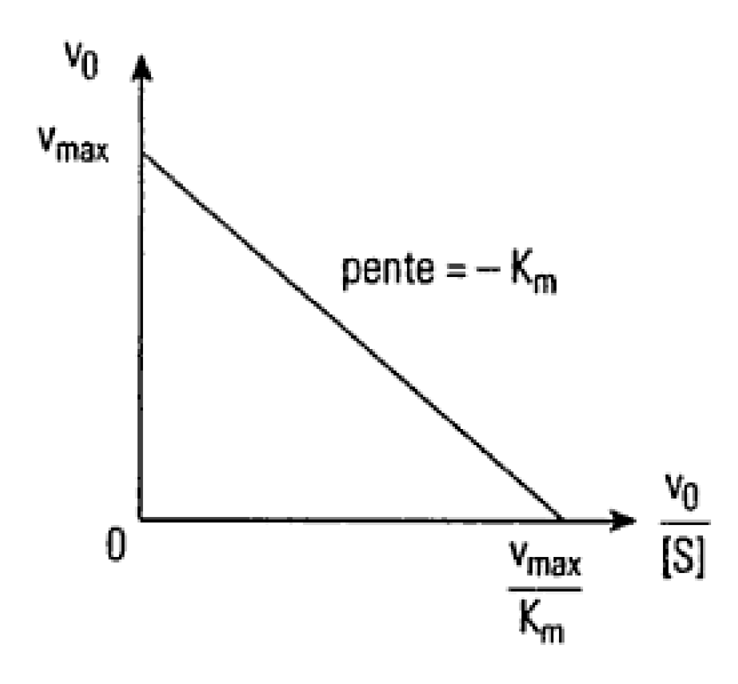


Fig. 5 – Représentation d'Eadie et Hofstee.

Copyrighted material

Les enzymes (2) Activité



L'activité enzymatique dépend des conditions du milieu et de la structure de l'enzyme.

1. Influence du pH et de la température

Le pH et la température sont deux facteurs qui affectent la vitesse des réactions catalysées par un enzyme.

– Le pH

Chaque enzyme agit à un pH optimal pour lequel la vitesse de réaction catalysée est à son maximum. L'activité enzymatique s'exerce dans un intervalle de pH très étroit encadrant le pH optimal. Celui-ci est variable selon l'enzyme ; il est par exemple égal à 4,0 pour la *pepsine* et à 9,0 pour la *trypsine.*

– La température

Il existe une température optimale qui est un compromis entre l'effet activateur par augmentation du nombre de chocs efficaces et l'effet inhibiteur par rupture des liaisons faibles de l'enzyme.

Les zones optimales de pH et de température sont celles qui conservent la structure tertiaire de la protéine. En dehors de celles-ci, on observe une **dénaturation** de la protéine ; l'enzyme perd alors son pouvoir catalytique (cf. fiche 10).

2. Site actif de l'enzyme

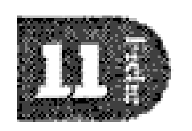
La spécificité d'un enzyme vis-à-vis d'un substrat suppose la formation d'un complexe enzyme-substrat impliquant la reconnaissance du substrat par l'enzyme. Une complémentarité stérique entre le **site actif** de l'enzyme et le substrat est donc nécessaire pour l'ajustement des deux surfaces. Deux modèles ont été proposés pour expliquer la fixation d'un enzyme à son substrat : le modèle « **clef-serrure** » repose sur un ajustement parfait et le modèle « **ajustement induit** » implique un changement de conformation de l'enzyme.

Le site actif comprend deux régions :

- le **site de fixation** reconnaît et fixe le substrat, généralement par de multiples liaisons faibles mais parfois par des liaisons covalentes transitoires ;
- le **site catalytique** permet la catalyse enzymatique.

Ces sites peuvent ne pas être voisins et sont, le plus souvent, rapprochés par des repliements de la chaîne peptidique.

Copyrighted Material



La perte de complémentarité stérique résultant de la formation des produits entraîne leur libération et le retour de l'enzyme dans sa conformation initiale.

3. Régulation de l'activité enzymatique

3.1. Durée de vie

La durée de vie d'un enzyme est variable, allant de quelques minutes à quelques jours. La perte de l'activité enzymatique peut résulter de différents facteurs : une dénaturation spécifique, la dégradation de la structure covalente par l'action de protéases, la disparition du substrat ou du coenzyme.

De nombreux enzymes sont synthétisés sous forme d'un précurseur inactif, le **proenzyme** ; c'est notamment le cas d'enzymes digestifs comme la *trypsine*. Celle-ci est produite sous forme de **zymogène**, le trypsinogène, par le pancréas. L'activation résulte le plus souvent d'une protéolyse : ainsi, le trypsinogène est hydrolysé en *trypsine* par l'*entérokinase*. Le clivage de la *trypsine* permet l'activation du trypsinogène et d'autres précurseurs.

D'autres modes d'activation enzymatique sont possibles comme la phosphorylation ou la déphosphorylation, ou un empêchement à l'action d'inhibiteurs.

3.2. Inhibition de l'activité enzymatique

De nombreux composés chimiques peuvent inhiber l'activité des enzymes. On distingue deux types d'inhibition : l'**inhibition réversible** et l'**inhibition irréversible**.

3.2.1. – Inhibition réversible

Elle comprend :

– l'inhibition réversible compétitive

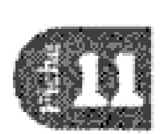
L'inhibiteur I est un analogue structural du substrat ; il se fixe sur le site actif de l'enzyme et entre donc en compétition avec les molécules du substrat. L'association enzyme-inhibiteur est réversible ; par ailleurs, en présence d'une concentration de substrat suffisante, la catalyse enzymatique reste possible. Les réactions de l'enzyme avec le substrat et l'inhibiteur sont simultanées :

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$$

$$E + I \rightleftharpoons EI$$

La conséquence de l'inhibition compétitive est l'accroissement apparent de la constante de Michaelis-Menten K_m (figure 1). De nombreux inhibiteurs compétitifs sont des produits de synthèse : citons les sulfamides, analogues

Copyrighted material



structuraux d'un précurseur de l'acide folique, et les curares, utilisés en anesthésie, qui entrent en compétition avec le récepteur de l'*acétylcholinestérase.*

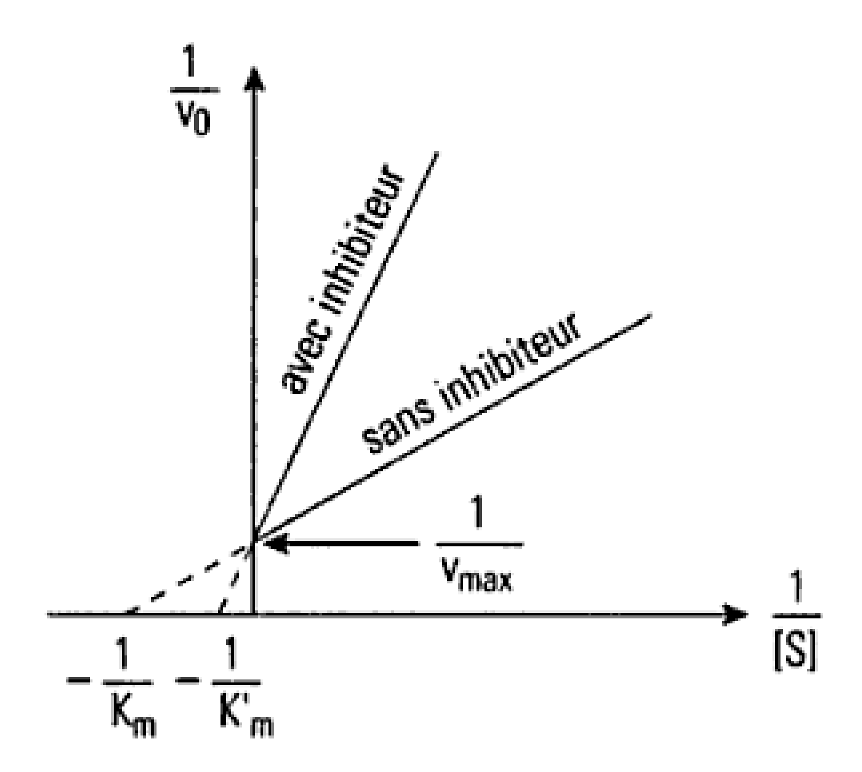


Fig. 1 – Inhibition réversible compétitive.

– l'inhibition réversible non compétitive

L'inhibiteur se fixe de manière réversible sur une région différente du site actif et entraîne une diminution de v_{max} sans modification de K_m (figure 2).

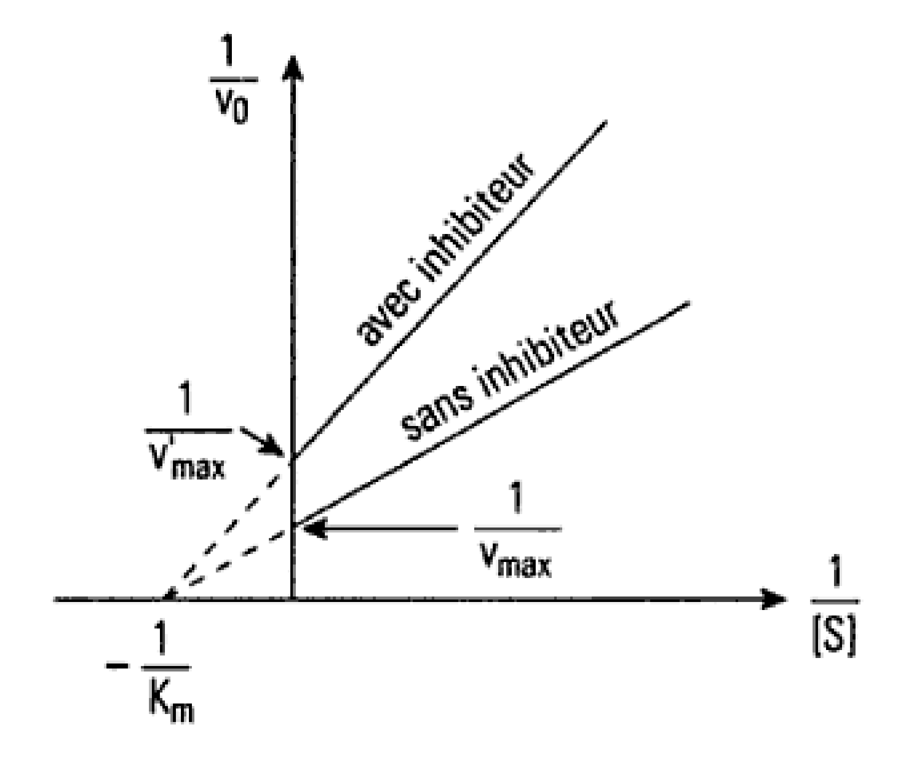


Fig. 2 – Inhibition réversible non compétitive.

3.2.2. – Inhibition irréversible

L'inhibiteur se fixe de manière irréversible sur le site actif ou un autre site de l'enzyme par des liaisons covalentes très stables. Dans ce type d'inhibition, v_{max} et K_m diminuent (figure 3). Les gaz de combat qui se fixent sur le site actif de la *cholinestérase* et les insecticides agissent de cette façon.

Copyrighted material

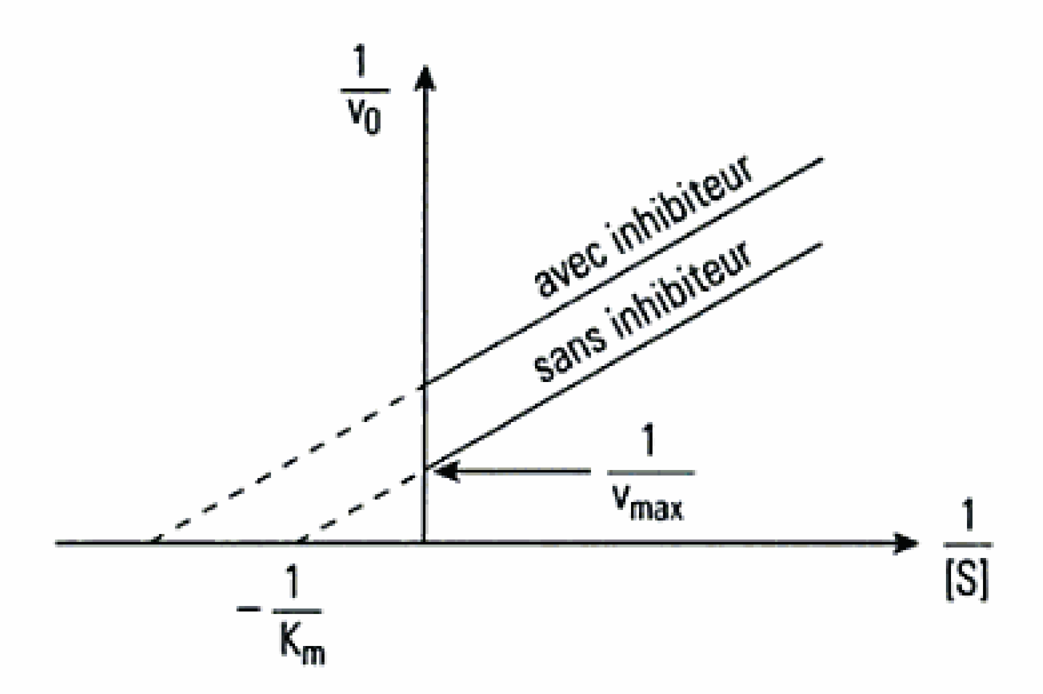


Fig. 3 – Inhibition irréversible.

3.3. Contrôle allostérique

Dans certaines conditions, la conformation de l'enzyme est modifiée après fixation d'un **effecteur** (activateur ou inhibiteur) sur un site spécifique de l'enzyme, le **site allostérique** ou **site régulateur**.

Dans le cas des enzymes dits Michaeliens (cf. fiche 10), on a la relation :

$$\frac{[ES]}{[E]_T} = \frac{[S]}{(K_m + [S])} = \frac{v_0}{v_{max}}$$

Le graphe représentant la fonction $\frac{v_0}{v_{max}} = f([S])$ est une branche d'hyperbole d'asymptote d'ordonnée 1.

Pour les enzymes dits allostériques, le graphe est une **sigmoïde** qui est modifiée par la présence d'effecteurs. Les activateurs rapprochent la sigmoïde de l'hyperbole michaelienne, les inhibiteurs l'éloignent (figure 4).

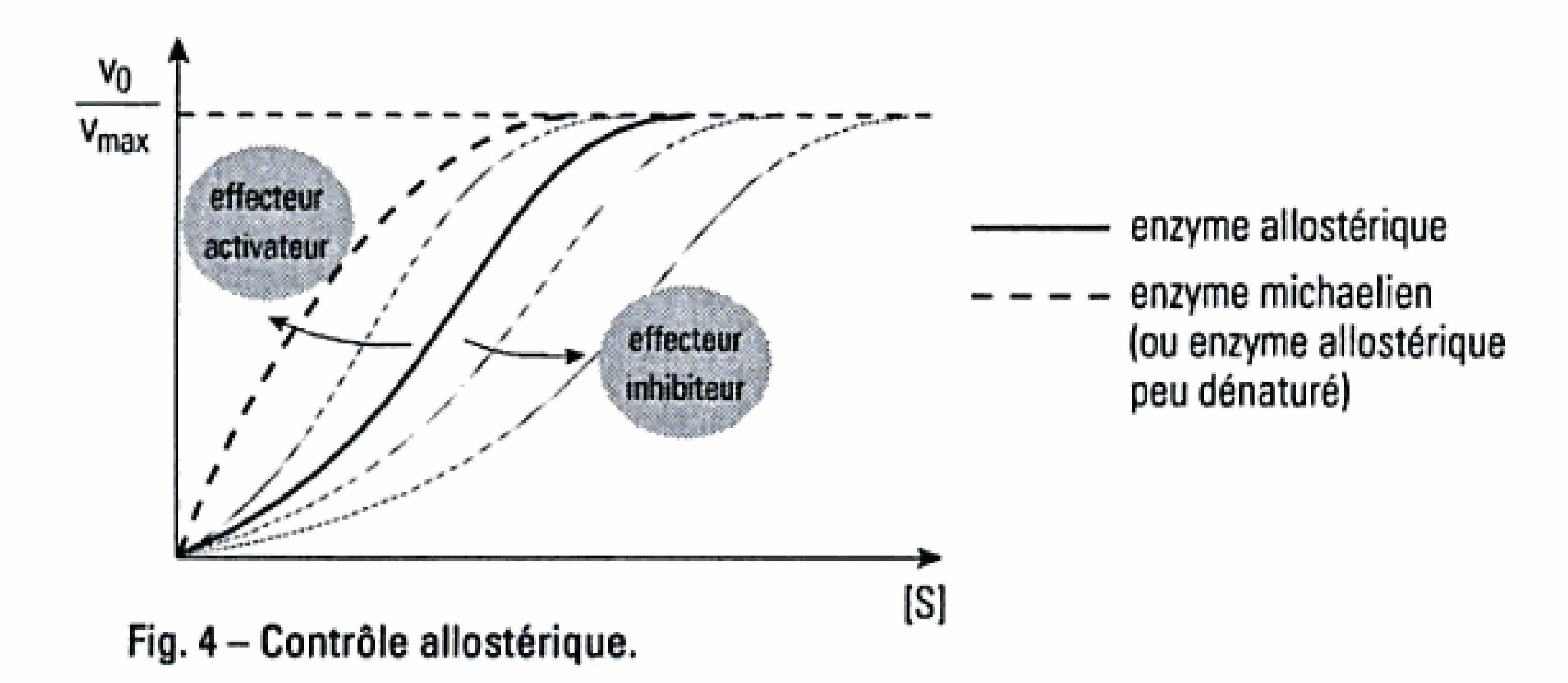
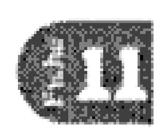


Fig. 4 – Contrôle allostérique.

Copyrighted material



L'équation ci-dessus devient :

$$\frac{\frac{[ES]}{[E]_T}}{1-\frac{[ES]}{[E]_T}} = \frac{[S]}{K_m} = K \cdot [S]$$

Posant $y = \frac{[ES]}{[E]_T}$ et $x = \frac{[S]}{K_m}$, on obtient la relation simple :

$$y = \frac{x}{1+x}$$

dite relation de Michaelis. L'existence des phénomènes allostériques est représentée par la formule empirique de Hill :

$$y = \frac{x^H}{1+x^H}$$

où H est le nombre de Hill. Plus H est élevé, plus la courbe est aplatie et s'éloigne de l'hyperbole pour laquelle H = 1.

On appelle **système K** un effecteur ne modifiant pas la vitesse maximale et **système V** un effecteur la modifiant ; pour les systèmes K et V, la constante de Michaelis est inchangée.

Signalons qu'une dénaturation ménagée d'un enzyme allostérique entraîne la perte des propriétés allostériques mais que les propriétés catalytiques peuvent être conservées ; on retrouve alors une cinétique michaelienne.

Les enzymes allostériques comportent plusieurs sites de fixation indépendants, la fixation du substrat sur un des sites modifiant l'affinité des autres sites pour le substrat ; il s'agit d'un **effet coopératif**. Le terme **enzyme allostérique** est dévolu à l'effet coopératif positif (augmentation de l'affinité), celui d'**enzyme flip-flop** à l'effet coopératif négatif (diminution de l'affinité). Les enzymes soumis à un contrôle allostérique sont des polymères comportant en général un nombre pair de sous-unités contenant chacune plusieurs sites allostériques en plus du site de fixation.

4. Classification des enzymes

Six classes d'enzymes sont retenues par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie selon les réactions chimiques catalysées. Elles sont respectivement :

1- oxydoréductases

2- transférases

3- hydrolases

4- lyases

5- isomérases

6- ligases (synthétases)

Copyrighted material

Chaque enzyme est désigné par l'abréviation EC (Enzyme Commission) suivie d'un code comportant quatre chiffres :

1) classe,

2) réaction catalysée,

3) et 4) nature des partenaires.

Ainsi par exemple, la NAD-*oxydorédutase* est désignée par E.C.1.1.1.27 : cet enzyme est donc une oxydoréductase agissant sur le groupe —CHOH— du substrat donneur, l'accepteur étant le NAD, et correspondant au 27ème enzyme de la série des oxydoréductases.

Copyrighted material

Les anticorps. Généralités



Les **anticorps (Ac)** ou **immunoglobulines (Ig)** sont des glycoprotéines sériques spécialisées dans les **réponses immunitaires** de **type humoral**. Leur production résulte de la reconnaissance des **antigènes (Ag)** qui sont des macromolécules naturelles ou synthétiques (protéine, nucléoprotéine, polyoside, certains glycolipides) étrangères à un organisme supérieur. Seule une partie de l'antigène appelée **déterminant antigénique** ou **épitope** est reconnue par l'anticorps.

La réponse immunitaire humorale repose sur la production d'anticorps par les **lymphocytes B** (B pour *bone marrow*). La présence d'un antigène active les lymphocytes B ; ils sont transformés par maturation en **plasmocytes** qui synthétisent et libèrent les anticorps circulants.

Rappelons que la **réponse immunitaire cellulaire** repose sur des **lymphocytes T** (tueurs) qui reconnaissent et détruisent directement les éléments étrangers.

On distingue cinq classes d'immunoglobulines chez les vertébrés : IgA, IgD, IgE, IgG et IgM. Les IgG représentent 80% des anticorps sériques et sont les seuls décrits dans cette fiche.

1. Composition et structure des IgG

1.1. Composition

Les immunoglobulines G (IgG) sont des glycoprotéines et renferment 3% de séquences glucidiques. Elles sont constituées par l'association de deux types de chaînes :

- deux **chaînes lourdes H** (ou heavy) identiques chacune formée d'environ 440 acides aminés (M = 52 000 Da)
- deux **chaînes légères L** (ou light) identiques chacune formée d'environ 220 acides aminés (M = 23 000 Da).

1.2. Structure

Chaque molécule d'IgG est symétrique. Elle se présente sous la forme d'un Y formé par deux branches dont chacune résulte de l'association d'une chaîne légère et d'une chaîne lourde par ponts disulfure ; les deux branches de l'Y sont également reliées par ponts disulfure (figure 1). La structure primaire de l'IgG permet de distinguer la partie N-terminale qui correspond au site de fixation de l'antigène. À l'extrémité N-terminale, une séquence de 110 aminoacides constitue une région variable sur les quatre chaînes (V_H et V_L) ; le reste des chaînes constitue les régions constantes (C_H et C_L). Les séquences glucidiques sont liées aux chaînes lourdes dans leur partie constante (figure 1).

Copyrighted Material



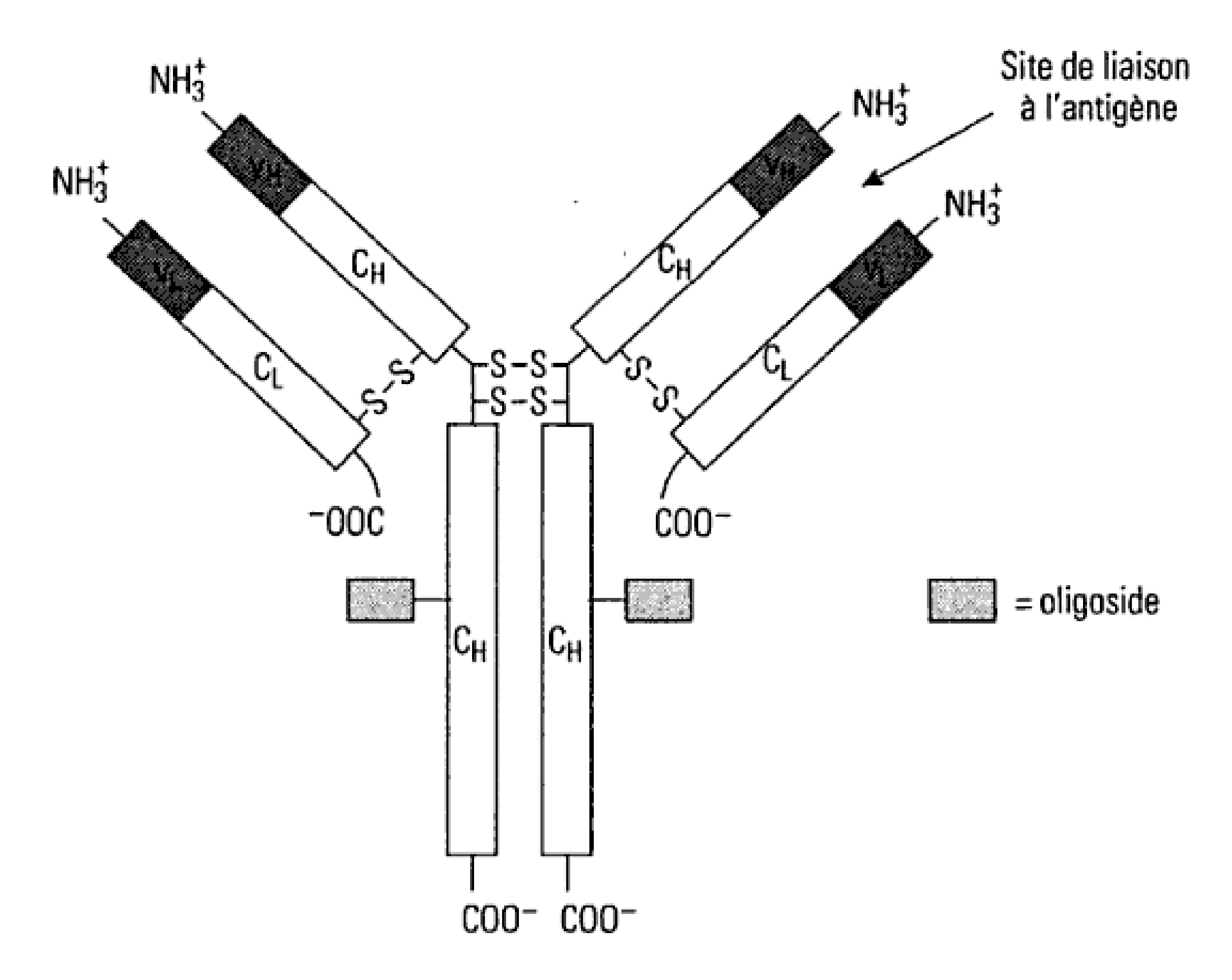


Fig. 1 – Structure d'une immoglobuline G (IgG).

L'action d'enzymes protéolytiques tels que la *papaïne* permet d'individualiser les deux bras de la molécule en forme de Y : deux fragments F_{ab} (Fragment antigen binding) et un fragment F_c (Fragment crystalisable) sont libérés (figure 2). Le fragment F_{ab} comporte le site de fixation de l'antigène alors que le fragment F_c intervient dans la réaction de destruction du complexe antigène-anticorps.

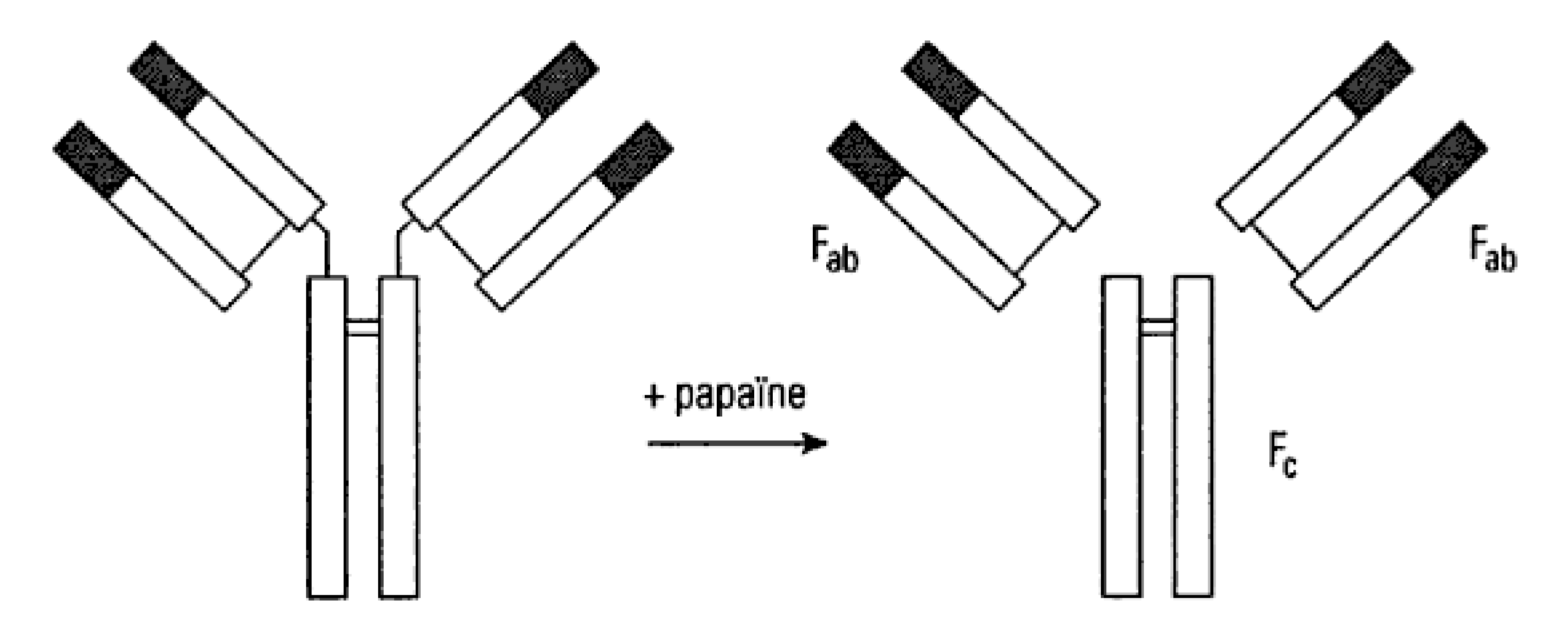


Fig. 2 – Fragments F_{ab} et fragment F_c d'une immunoglobuline G (IgG).

Copyrighted material



2. Le site de fixation

L'antigène peut se fixer sur deux sites de l'anticorps appelés **paratopes** (figure 3) ; ils sont situés dans la région variable de l'extrémité N-terminale. Les paratopes constituent des boucles hypervariables localisées dans des régions qui sont aussi hypervariables (trois par chaîne) ; ces régions se situent au niveau des régions variables des chaînes légère et lourde.

Le complexe antigène-anticorps se construit d'une manière analogue à celle décrite pour la formation du complexe enzyme-substrat (cf. fiche 11). Les antigènes portent généralement plusieurs **épitopes** ; les complexes antigène-anticorps formés sont des agrégats insolubles qui sont détruits par interaction avec d'autres éléments du système immunitaire faisant intervenir le fragment F_c. Il existe donc une différence très importante entre le mode d'action d'un anticorps et la catalyse enzymatique : l'anticorps est détruit à la fin de la réaction alors que l'enzyme, catalyseur, est régénéré (cf. fiche 10).

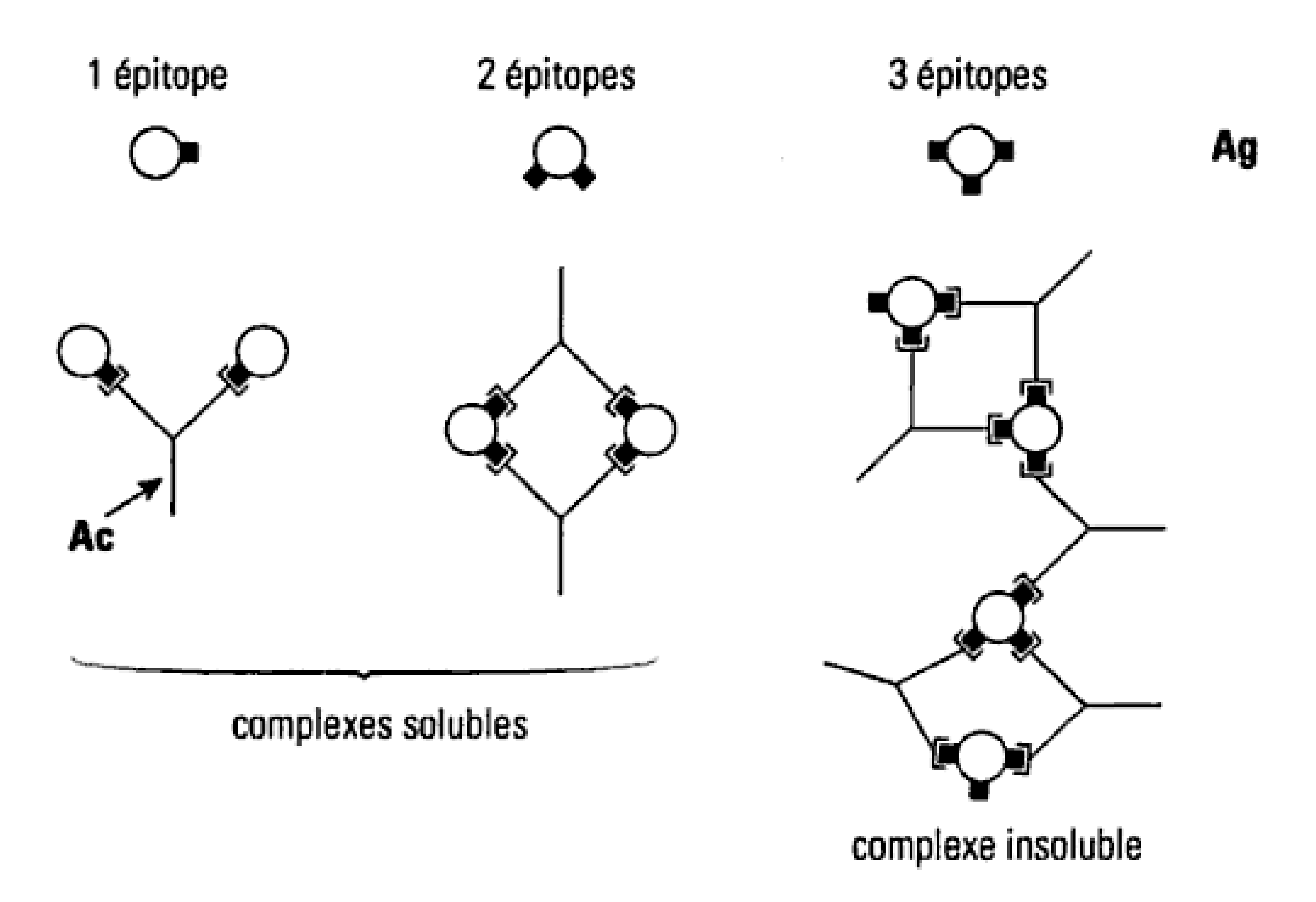


Fig. 3 – Formation des complexes antigène-anticorps.

Copyrighted material

Fiche 13

Les glucides (1) Les oses

Généralités sur les glucides

Les **glucides** sont des molécules très répandues dans les tissus animaux et végétaux. La plupart des glucides étant composés uniquement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, leur formule à longtemps été écrite $C_n(H_2O)_n$ les faisant improprement nommer hydrates de carbone. Ce sont des polyols possédant une fonction carbonyle (aldéhyde ou cétone).

Ils peuvent être considérés comme des métabolites dérivés du **D-glucose**, élément énergétique majeur des cellules. Chez les végétaux, les glucides sont des produits issus de la photosynthèse (cf. fiche 20).

Les **polymères glucidiques** peuvent être classés selon leur composition ou selon leur rôle. En fonction de la composition, on distingue les **homopolyosides** (le glycogène est un polymère de glucose) et les **hétéropolyosides** (acide hyaluronique par exemple). En fonction du rôle, on distingue les **polyosides de structure** (cellulose) et les **polyosides de réserve** (amidon, glycogène). Des séquences glucidiques courtes sont impliquées dans les phénomènes de reconnaissance cellulaire. Les hétérosides comportent des séquences non glucidiques.

1. Propriétés des oses

Les glucides simples sont appelés **oses** ; il s'agit de composés non ramifiés dont le nombre n d'atomes de carbone varie de trois à sept d'où leur appellation : triose (3 C), tétrose (4 C), pentose (5 C), hexose (6 C), heptose (7 C). Les pentoses et les hexoses sont les oses les plus couramment rencontrés dans le règne vivant.

Un ose à n atomes de carbone comporte n groupes fonctionnels :

– un **groupe carbonyle** qui est soit une fonction aldéhyde (—CHO) soit une fonction cétone (—CO—) : l'ose respectif correspondant est alors un **aldose** ou un **cétose**.

– (n – 1) **groupes hydroxyle** correspondant à des alcools primaires ($R-CH_2OH$) ou secondaires ($R_1-CHOH-R_2$).

Les oses, composés très hydrophiles, sont tous **réducteurs**. Les propriétés réductrices peuvent être mises en évidence en utilisant la liqueur de Felhing (solution d'ions cuivriques Cu^{2+}) ou un sel d'argent en milieu alcalin : on obtient respectivement un précipité rouge d'oxyde cuivreux (Cu_2O) et un dépôt d'argent métallique (miroir d'argent). En milieu basique, il existe un équilibre cétose-aldose résultant d'une tautomérie et favorisant l'oxydation ménagée.

Copyrighted material



2. Aldoses et cétoses

2.1. Aldoses

Le plus simple des aldoses est le 2,3-dihydroxypropanal ou glycéraldéhyde (aldotriose) de formule semi-développée ($CH_2OH-CHOH-CHO$). Il possède un carbone asymétrique ; sa représentation en **projection de Fischer** est :

```
      CHO                    CHO
       |                      |
    H—C—OH               HO—C—H
       |                      |
      CH2OH                  CH2OH

  D-glycéraldéhyde       L-glycéraldéhyde
```

On rappelle que la numération d'une chaîne carbonée commence par l'extrémité la plus oxydée.

Dans la série D, le groupe hydroxyle —OH du dernier carbone asymétrique de la chaîne verticale est à droite ; dans la série L, il se trouve à gauche (cf. fiche 2). Les oses naturels les plus importants appartiennent à la série D ; le L-arabinose (pentose) fait exception à cette règle.

– **Filiation des aldoses**

Par synthèse chimique, il est possible d'allonger la chaîne carbonée de manière séquentielle au niveau du groupe carbonyle. Ainsi, le D-glycéraldéhyde donne naissance à deux tétroses :

```
      CHO                    CHO
       |                      |
    H—C—OH       et      HO—C—H
       |                      |
    H—C—OH                H—C—OH
       |                      |
      CH2OH                  CH2OH

   D-érythrose            D-thréose
```

Ces tétroses ne diffèrent que par le carbone asymétrique C2 ; ce sont des **épimères.**

La figure 1 décrit la filiation de C3 à C6 des D-aldoses.

– **Principaux aldoses**

Parmi les pentoses, le **ribose** est l'aldose le plus représenté : il entre dans la composition des acides nucléiques et de co-enzymes. Parmi les hexoses, le **glucose,** le **galactose** et le **mannose** sont les principaux aldoses.

Copyrighted material



CHO
OH
CH_2OH
D-glycéraldéhyde

D-érythrose
D-thréose

D-ribose
D-arabinose
D-xylose
D-lyxose

D-allose
D-altrose
D-glucose
D-mannose
D-gulose
D-idose
D-galactose
D-talose

Fig. 1 – Filiation des aldoses.

2.2. Cétoses

Le cétose le plus simple est la 1,3-dihydroxypropanone (cétotriose) de formule semi-développée $CH_2OH-CO-CH_2OH$. La filiation des cétoses ne résulte pas d'une méthode de synthèse aussi simple que celle des aldoses. Un céto-hexose important est le **D-fructose,** lévogyre, sucre des fruits (figure 2).

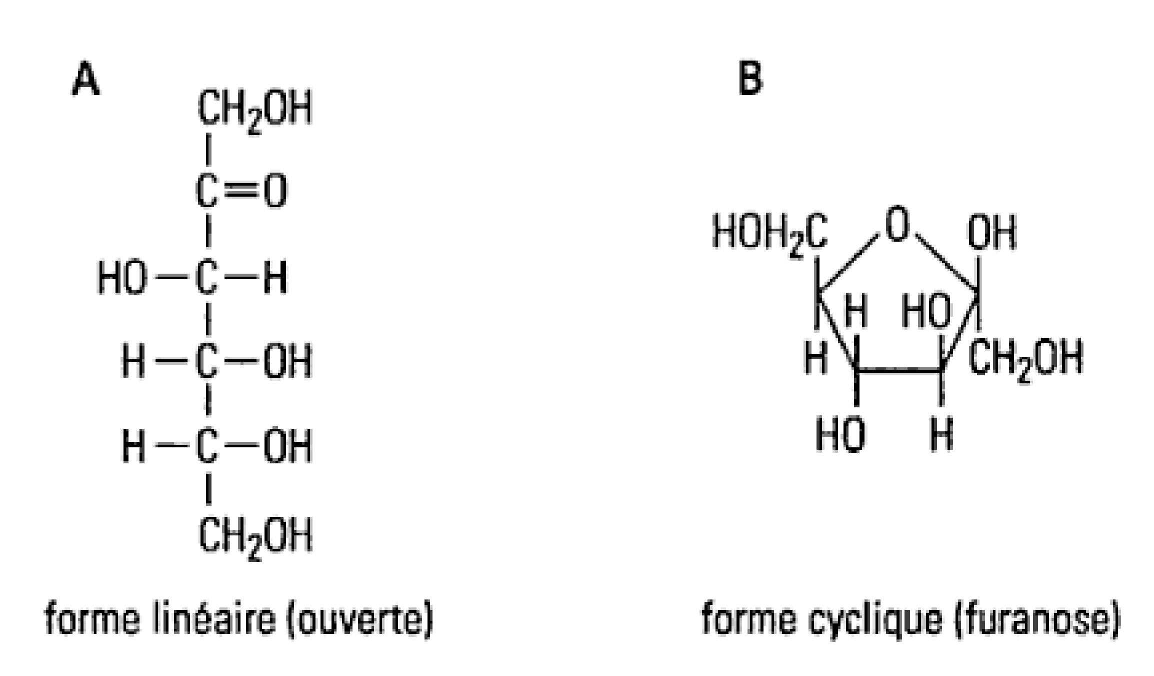
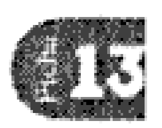


Fig. 2 – Représentation du fructose.

Copyrighted material



3 Cyclisation des oses

– Formation d'un cycle

La cyclisation s'observe pour les **aldoses** et les **cétoses** possédant un nombre suffisant d'atomes de carbone pour former un cycle stable (5 ou 6 chaînons). Les cycles à 5 chaînons et 6 chaînons sont respectivement appelés **furanose** et **pyranose**. La cyclisation résulte de la réaction entre le groupe carbonyle et une fonction alcool secondaire (en C4 ou C5) ; il se forme un **hémiacétal** dans le cas des aldoses et un **hémicétal** dans le cas des cétoses. La formation d'un hémiacétal ou d'un hémicétal fait apparaître un nouveau carbone asymétrique en C1 appelé **carbone anomérique**. Les épimères formés lors de la cyclisation sont appelés **anomères α et β**.

– Représentation de Haworth

Dans cette représentation plane, les groupes hydroxyles, situés à droite de la chaîne verticale dans la représentation de Fischer, sont en dessous du plan et ceux de gauche sont au-dessus du plan. L'**hydroxyle de la fonction hémiacétal** est **en dessous** du plan pour l'**anomère α** et **au-dessus** du plan pour l'**anomère β** ; la fonction alcool primaire est au-dessus du plan pour la série D et en dessous du plan pour la série L (figure 3).

A

CHO — OH — HO — OH — OH — CH_2OH

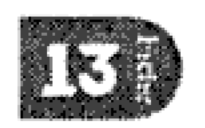
D-glucose

B

β-glucopyranose α-glucopyranose

Fig. 3 – Le D – glucose.
(A) Forme ouverte, représentation de Fischer
(B) Cyclisation et représentation de Haworth des formes cycliques

Copyrighted material



– **Conformation chaise**

Si les cycles à 5 chaînons peuvent être considérés comme plans, ceux à 6 chaînons adoptent une **conformation chaise**. Pour chaque conformation chaise, deux **conformères** existent ; le conformère le plus stable est celui dont le maximum de substituants encombrants se trouve en **position équatoriale**, c'est à dire dans le plan moyen de la molécule. Les positions perpendiculaires au plan moyen de la molécule sont dites **axiales** (figure 4).

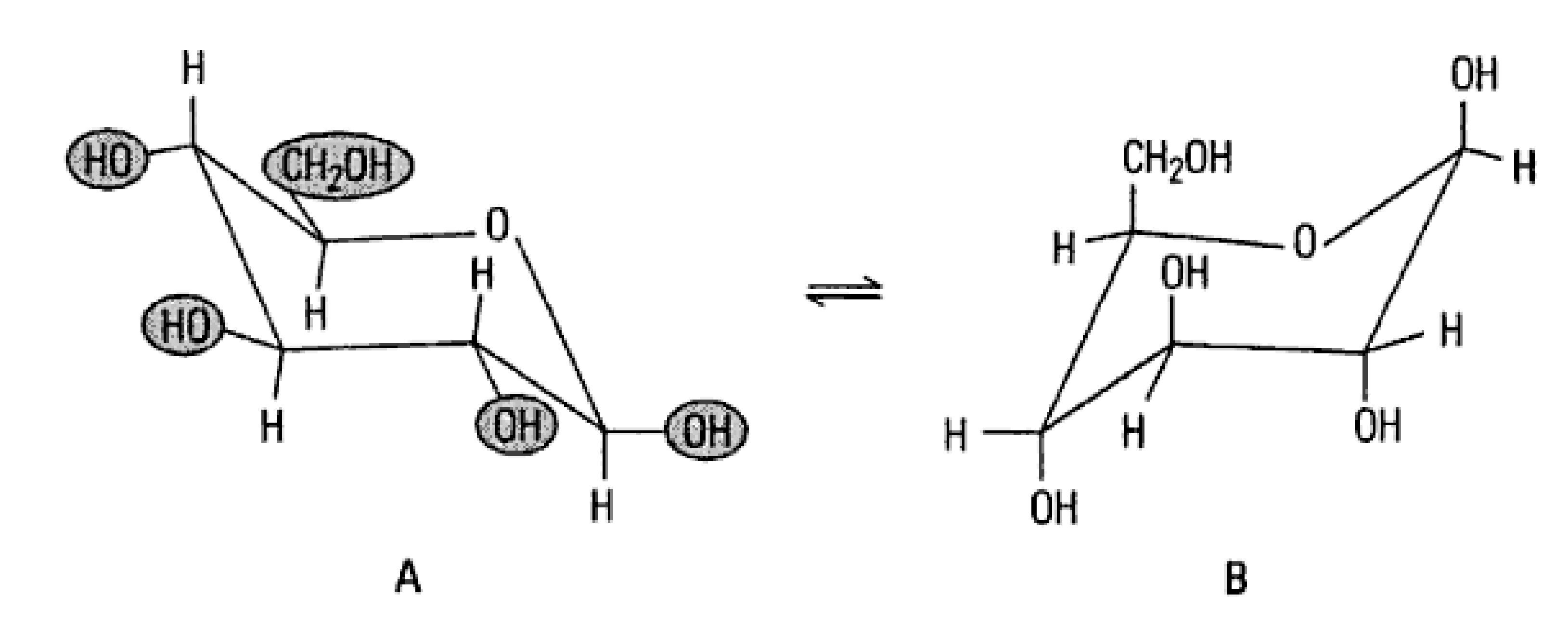


Fig. 4 – Représentation du β-D-glucopyranose dans sa conformation chaise. Le conformère A (tous les constituants en position équatoriale) est plus stable que le conformère B.

– **Mutarotation**

Le pouvoir rotatoire d'une solution aqueuse d'un anomère pur d'un aldose évolue pour atteindre une valeur stable. C'est le **phénomène de mutarotation**. Dans le cas du D-glucose, à 25° C, la valeur atteinte pour une solution molaire est de + 52,7 °. Ce pouvoir rotatoire d'équilibre est intermédiaire entre le pouvoir rotatoire spécifique des formes α (+ 112,2 °) et β (+ 18,7 °). La mutarotation résulte de l'inconversion des formes α et β avec pour intermédiaire la forme ouverte. À l'équilibre, les formes cycliques α et β représentent respectivement 36,4 % et 63,6 % et la forme ouverte moins de 0,01 %.

4. Glucides dérivés des oses

Les glucides dérivés des oses peuvent résulter de différentes réactions chimiques :

– réduction d'une fonction alcool : c'est par exemple le cas du désoxyribose constitutif de l'ADN (figure 5A) et du fucose (6-désoxy-L-galactose) représentant le motif des oligosides (figure 5B).

– oxydation de l'alcool primaire en acide carboxylique ; cette oxydation conduit aux acides uroniques dont certains entrent dans la composition des polyosides (figure 5C).

Copyrighted material

Fiche 14 Les glucides (2) Les osides

Les osides résultent de l'association de deux ou plusieurs oses ou dérivés d'oses. Les osides sont classés en **holosides**, composés uniquement d'oses ou de molécules dérivées et en **hétérosides**, composés d'oses et de molécules non glucidiques.

1. Holosides

1.1. Diholosides

Les **diholosides** résultent de la condensation de **deux molécules** d'oses ou de dérivés d'oses avec formation d'une fonction éther et élimination d'une molécule d'eau. La liaison formée est appelée **liaison glycosidique**. Le **maltose** (intermédiaire de la formation du glycogène et de l'amidon), le **lactose** (sucre du lait) et le **saccharose** (ou sucrose, produit de la photosynthèse) sont les diholosides les plus représentés :

– le **maltose** se forme à partir de deux molécules de α-D-glucopyranose ; la liaison glycosidique s'établit entre le carbone 1 (fonction hémiacétal) de la première molécule (hydroxyle en position α) et la fonction alcool du carbone C4 de la seconde molécule ; la liaison glycosidique est dite α(1-4) (figure 1A).

– le **lactose** se forme à partir d'une molécule de β-D-galactopyranose et d'une molécule de α-D-glucopyranose ; la liaison est dite β(1-4) (figure 1B).

Le phénomène de mutarotation peut se produire pour le maltose et le lactose ; par ailleurs, ces deux diholosides conservent leurs propriétés réductrices (cf. fiche 13).

– le **saccharose** résulte de la formation d'une liaison glycosidique α(1-2) entre une molécule de α-D-glucopyranose et une molécule de β-D-fructofuranose ; la formation de cette liaison entraîne la perte des propriétés réductrices (figure 1C).

Seuls trois diholosides existent à l'état libre ; ce sont le maltose, le lactose et le tréhalose (présent chez les champignons).

1.2. Oligosides

Les oligosides sont de petits polymères comprenant de **trois à dix molécules d'oses** ; leur diversité est très grande. Ils ont une séquence précise et sont porteurs d'une information. Ils sont le plus souvent associés à des lipides (glycolipides) ou à des protéines (glycoprotéines). Chez les cellules animales, les oligosides sont des marqueurs de surface des membranes plasmiques ; chez les cellules végétales, ils constituent des signaux de reconnaissance lorsqu'ils sont intégrés aux polysaccharides structuraux de surface.

Copyrighted material



A

maltose
(liaison α (1-4) glucose —— glucose)

B

lactose
(liaison β (1-4) galactose —— glucose)

C

saccharose
(liaison α (1-2) glucose —— fructose)

Fig. 1 – Principaux diholosides.

1.3. Polyosides

Les polyosides sont des macromolécules que l'on peut classer en polyosides de réserve (glycogène, amidon, inuline) et en polyosides de structure (cellulose, chitine).

Les plus représentés sont des homopolymères du glucose ou **glucanes** : le glycogène, l'amidon et la cellulose.

Le **glycogène** est une forme de réserve du glucose sous la forme α-D-glucose chez l'animal ; il est stocké dans les cellules hépatiques. C'est un polyoside constitué de longues chaînes formées par des liaisons de type α(1-4) entre les unités et comportant un branchement latéral par liaison α(1-6) toutes les dix unités approximativement (figure 2A).

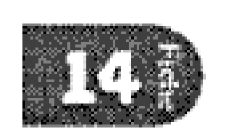
L'**amidon**, substance glucidique de réserve des végétaux, est formé à partir de l' α-D-glucose et correspond à un mélange de deux glucanes :

– l'**amylose** : enchaînement linéaire par liaisons α(1-4) et présentant une conformation en hélice (figure 2B),

– l'**amylopectine** : enchaînement linéaire par liaisons α(1-4) et possédant des ramifications par liaisons α(1-6).

L'amylose représente 5 à 30% de l'amidon et l'amylopectine 70 à 95% de celui-ci.

Copyrighted material



La **cellulose**, composé présent dans les parois cellulaires végétales et les parties ligneuses, représente le polysaccharide le plus important de la biomasse (50% du carbone organique). La cellulose est constituée d'un enchaînement linéaire de β-D-glucose formé par liaisons β(1-4) (figure 2C) ; plusieurs chaînes sont associées et leur cohésion est assurée par des liaisons hydrogène.

A

CH_2OH — O — OH — 1 α — O — liaison α (1-6) — OH — CH_2OH — 6 CH_2 — glycogène

—O— OH 1 α —O— 4 OH 1 α —O···

OH OH

liaison α (1-4)

B

CH_2OH CH_2OH

—O— OH 1 α —O— 4 OH —O··· amylose (20 % de l'amidon)

OH OH

liaison α (1-4)

C

CH_2OH CH_2OH

O OH 1 β O 4 OH O cellulose

OH OH

liaison β (1-4)

Fig. 2 – Exemples de polyosides.

Les polyholosides peuvent être détectés par des réactions de cytochimie dans lesquelles deux fonctions alcool en α sont mises en évidence : l'oxydation ménagée des fonctions alcool conduit à la formation de fonctions aldéhyde qui peuvent être détectées soit par le réactif de Schiff (coloration rouge) soit par le thiocarbohydrazide révélé par ses sels d'argent et visualisés en microscopie électronique.

Copyrighted material

2. Hétérosides

Les **hétérosides** comportent une fraction non glucidique appelée **aglycone**. La liaison entre l'oside et la molécule non glucidique s'établit entre le carbone anomère du glucide (jonction α ou β) et un atome d'oxygène ou d'azote de l'aglycone. Citons :

– les nombreux **hétérosides végétaux** parmi lesquels l'**amygdaline** ou amygdalosine, (hétéroside cyanogénétique principe actif toxique des graines de Rosacées) dont l'hydrolyse libère le mandélonitrile puis l'ion cyanure (figure 3A),

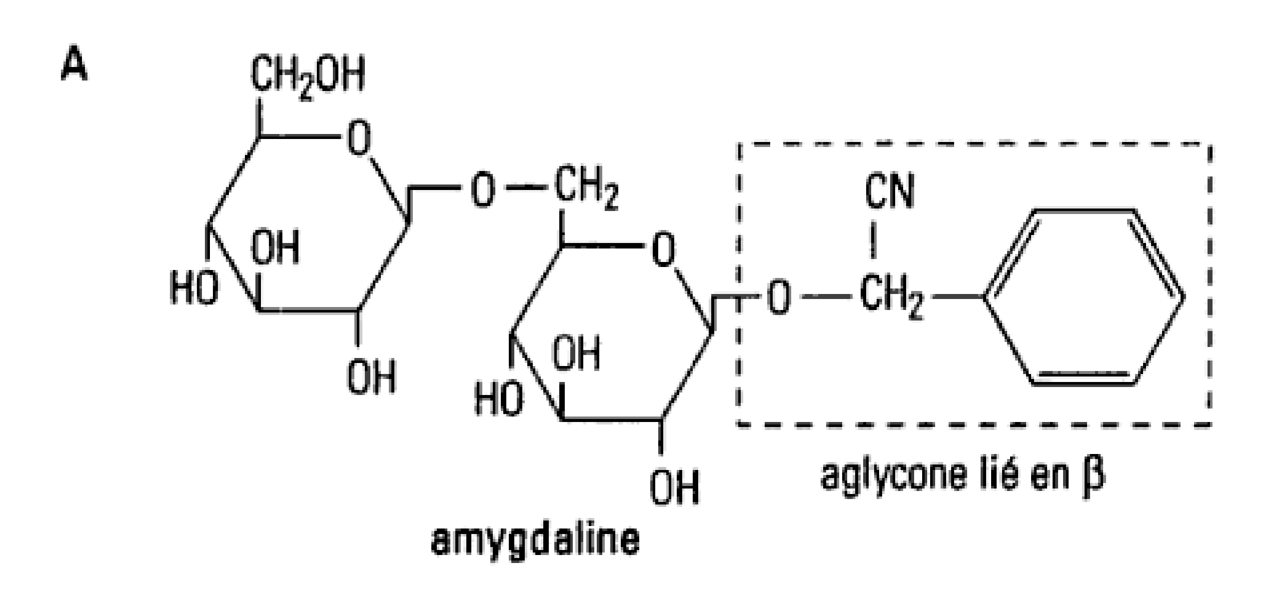
– les **acides nucléiques** (enchaînements de nucléotides) : l'acide désoxyribonucléïque (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN) (cf. fiches 15 et 16),

– les **glycolipides** membranaires,

– les **glycopeptides** et **glycoprotéines** (récepteurs membranaires, immunoglobulines, groupes sanguins),

– les dérivés possèdant des **groupes phosphate** qui participent au métabolisme des glucides,

– les dérivés possèdant des **groupes sulfate** comme l'**héparine**, anticoagulant, qui est un glucosaminoglycane (figure 3B) et dont le protomère comprend un acide uronique, une α(1-4) osamine et porte trois fonctions sulfate.



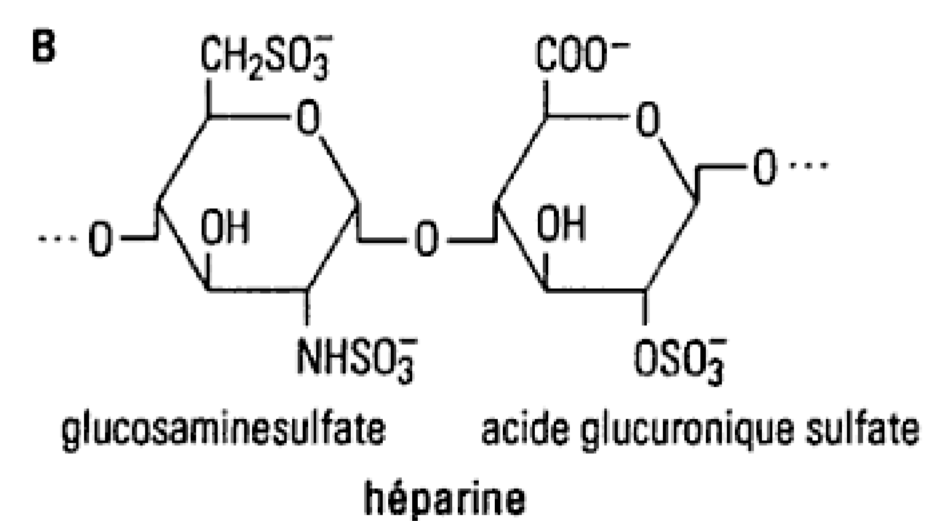


Fig. 3 – Exemples d'hétérosides.

Copyrighted material

Les **acides nucléiques** sont des macromolécules dont l'unité de base est le **nucléotide** qui résulte de l'estérification de l'ose d'un **nucléoside** par l'**acide phosphorique**. Un nucléoside est un hétéroside ; un ose, le D-ribose dans l'acide ribonucléique (ARN) ou le 2-D-désoxyribose dans l'acide désoxyribonucléique (ADN), est combiné à une base purique ou pyrimidique par la formation d'une **liaison N-glycosidique**.

$$\text{Base + ose} \longrightarrow \text{nucléoside} \xrightarrow{H_3PO_4} \text{nucléotide}$$

$$\text{n nucléotides} \longrightarrow \text{acide nucléique}$$

1. Nucléosides

Un nucléoside est constitué d'un ose et d'une base purique ou pyrimidique liés de façon covalente par une liaison N-glycosidique. L'ose constitutif est un pentose, soit le β-D-ribofuranose soit le 2-désoxy-β-D-ribofuranose (figure 1). Les atomes de carbone de l'ose sont numérotés prime (1', 2', etc.) pour les différencier des atomes de carbone des bases (figure 2). La liaison N-glycosidique s'établit entre le carbone 1' de l'ose et un atome d'azote de la base (figure 2) ; cette liaison est plus fragile avec les bases puriques qu'avec les bases pyrimidiques. Lorsque l'ose est le désoxyribose, le nucléoside est un **désoxynucléoside** ; lorsque l'ose est le ribose, il s'agit d'un **ribonucléoside**.

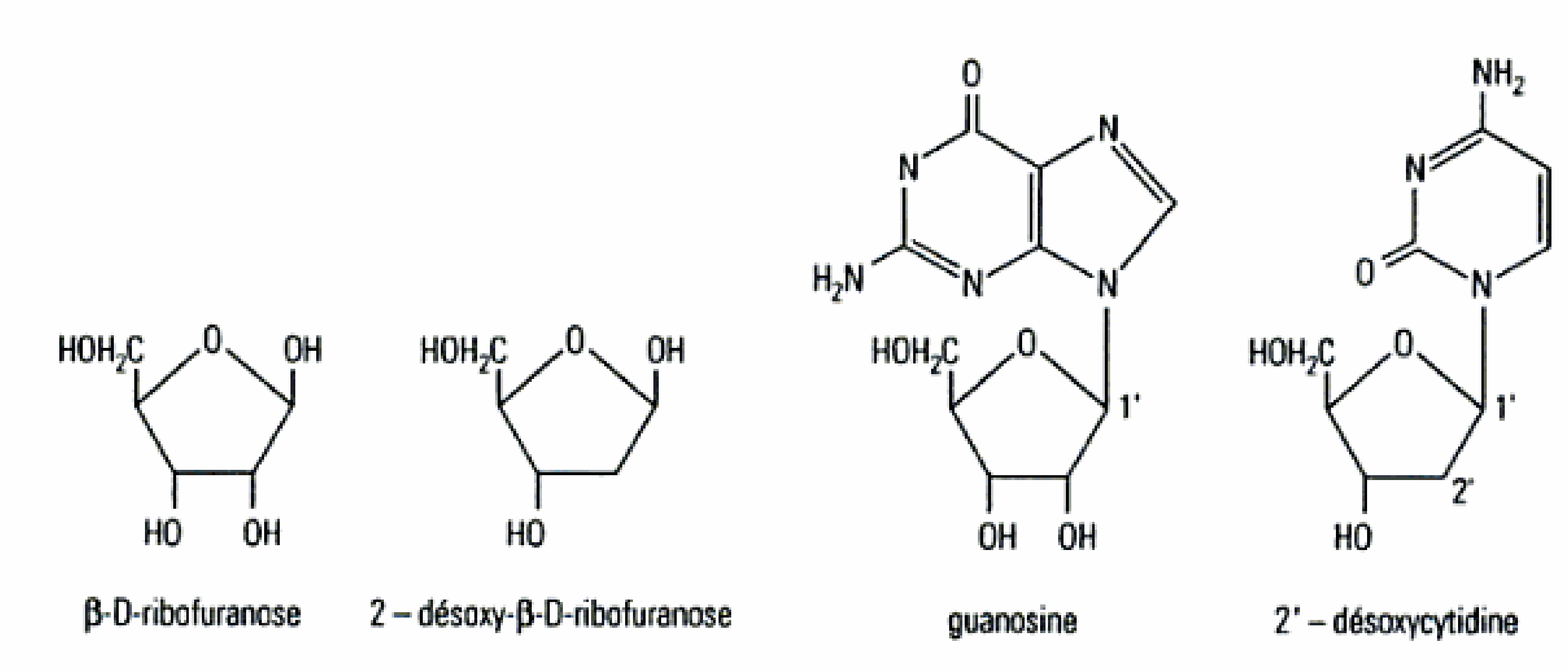


Fig. 1 – Oses constitutifs des nucléosides.

Fig. 2 – Liaison N-glycosidique.

Les bases puriques et pyrimidiques sont des hétérocycles azotés.

Les **bases puriques** sont l'**adénine (A)** et la **guanine (G)** (figure 3A).

Les **bases pyrimidiques** sont la **cytosine (C)**, l'**uracile (U)** et la **thymine (T)** (figure 3B).

Copyrighted material

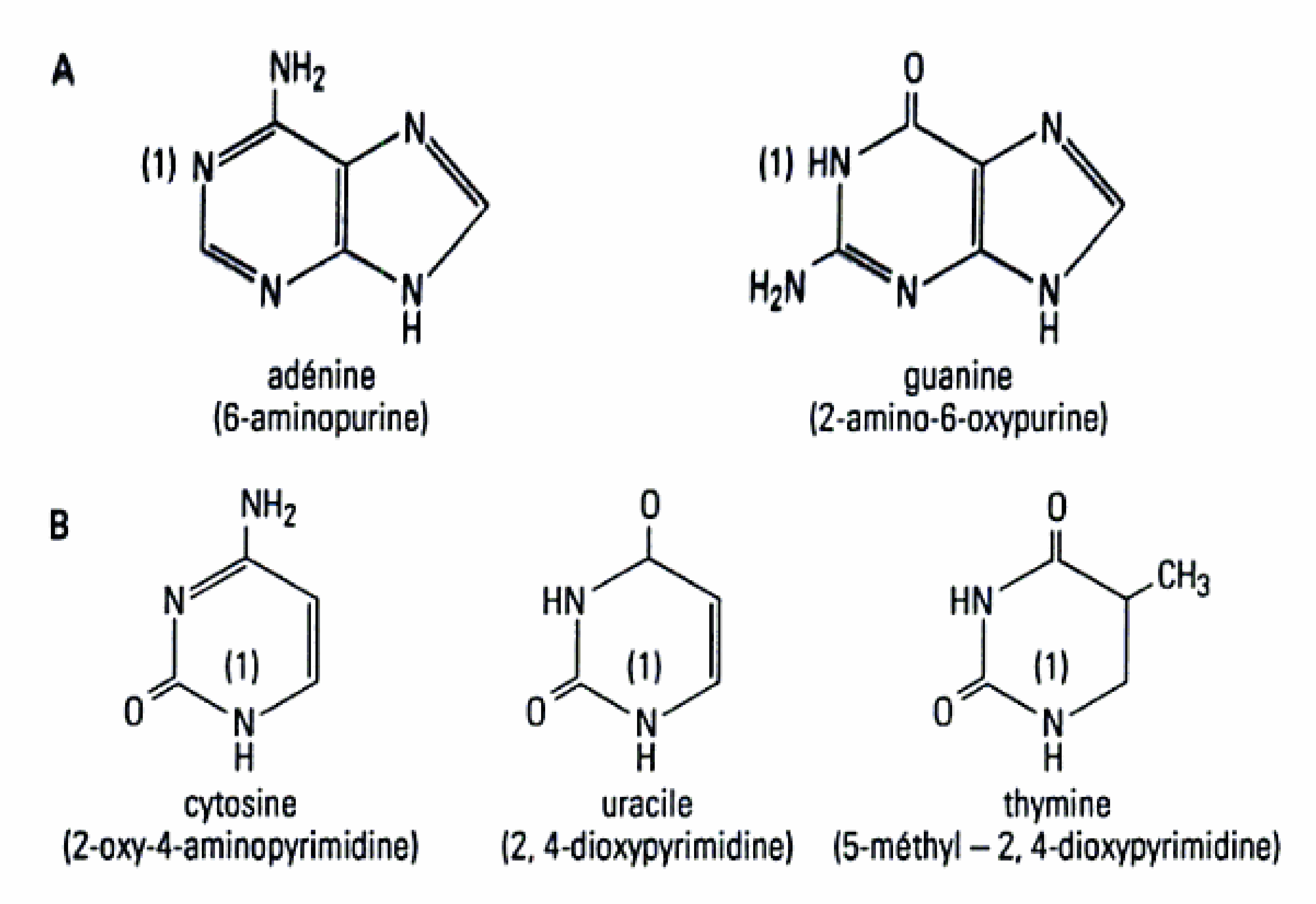


Fig. 3 – Bases puriques (A) et bases pyrimidiques (B).

Les bases pyrimidiques existent sous plusieurs **formes tautomères** (figure 4).

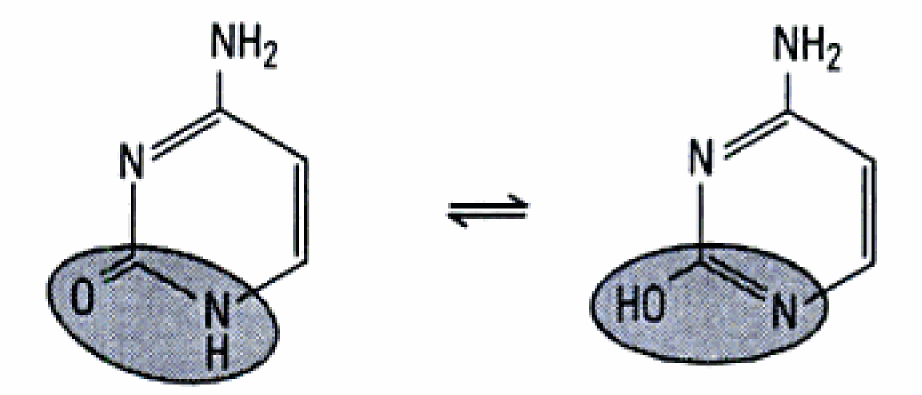


Fig. 4 – Tautomérie – Exemple de la cytosine.

Certaines bases rares sont présentes dans l'ADN et l'ARN de certains microorganismes, par exemple le 5-hydroxyméthyl-cytosine.

Il existe des analogues structuraux des bases puriques ou pyrimidiques ainsi que de leurs nucléosides ; ils ont une action bactériostatique, antivirale ou antimitotique comme le 5-fluoro-uracile par exemple.

2. Nucléotides

2.1. Nucléotides des acides nucléiques

Les nucléotides sont des esters phosphoriques des nucléosides. L'estérification du nucléoside se produit soit (*i*) en position 3' ou 5' du désoxyribose : il se forme alors un **désoxyribonucléotide**, soit (*ii*) en position 2', 3' ou 5' du ribose : il se forme alors un **ribonucléotide** (figure 5A). Les nucléotides

Copyrighted Material

peuvent avoir un, deux ou trois groupements phosphate au niveau de la liaison estérifiée ; par exemple, les nucléotides 5'-polyphosphate dérivent des nucléotides 5'-monophosphate par formation de fonctions anhydride d'acide avec une ou plusieurs molécules d'acide phosphorique (figure 5B).

Fig. 5 – Formation d'un nucléotide monophosphate (A) et diphosphate (B).

Seuls les **nucléotides 5'-monophosphate** se rencontrent dans les acides nucléiques.

2.2. Autres nucléotides

Certains nucléotides sont présents dans des structures différentes de celles des acides nucléiques et sont impliqués dans diverses fonctions.

– Fonction de messager

Deux nucléotides **3',5'-monophosphate** ont un rôle clef de messagers dans l'action des hormones ; ce sont l'AMP-cyclique (adénosine monophosphate cyclique) (figure 6) et le GMP-cyclique (guanosine monophosphate cyclique).

Fig. 6 – adénosine 3', 5' – monophosphate cyclique (AMP cyclique).

– Fonction de transfert d'énergie

Les nucléotides simples ADP (adénosine diphosphate) et ATP (adénosine triphosphate), dérivés de l'AMP, comportent respectivement une et deux

Copyrighted material

liaisons phosphate « riches en énergie » (cf. fiche 5). L'ATP apparaît ainsi comme une source d'énergie facilement mobilisable ; cette énergie joue en particulier un rôle fondamental dans la phosphorylation des oses. Le turn-over de l'ATP est très rapide dans la cellule ce qui en fait un intermédiaire et non une forme de réserve d'énergie. Les nucléotides simples dérivés des autres nucléosides (guanosine, thymidine et cytidine) jouent le rôle de transporteurs.

– Fonction de co-enzyme

Les **nucléotides complexes** sont dérivés de vitamines (figure 7). Par exemple, le NAD (nicotinamide-adénine-dinucléotide) et le NADP (nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate), coenzymes de déshydrogénases, sont obtenus à partir de la vitamine PP (niacine). D'autres coenzymes de déshydrogénases, la flavine-mononucléotide (FMN) et la flavine-adénine-dinucléotide (FAD) dérivent de la vitamine B2 (riboflavine). La formation du coenzyme A qui permet le transfert de radicaux acyle repose en partie sur l'acide pantothénique. Le coenzyme B_{12} (cobamide-enzyme) qui participe aux transferts d'hydrogène et de radicaux mono-carbonés est formé à partir de la vitamine B_{12} (cobalamine).

$CONH_2$
$N^{\oplus}$ adénine
ribose – Ⓟ – Ⓟ – ribose
NAD^+

COOH
N
acide nicotinique
(niacine)

riboflavine
(vitamine B_2)

ribose – Ⓟ – Ⓟ – ribose – adénine
FAD

ribose – Ⓟ
FMN

Fig. 7 – Exemples de co-enzymes dérivés de vitamines.
Ⓟ représente un groupe phosphate.

Copyrighted material


Bibliotheque Scientifique
Groupe « ouvert »
facebook

En raison de l'encombrement stérique, les seules associations possibles entre les chaînes résultent de liaisons hydrogène entre bases complémentaires ; l'adénine et la thymine sont liées par deux liaisons hydrogène, la cytosine et la guanine par trois (figure 2) ; il y a appariement.

(figure)
···· : liaison hydrogène
thymine (T)
adénine (A)
cytosine (C)
guanine (G)

Fig. 2 – Liaisons hydrogène entre bases complémentaires.

La complémentarité entre bases conduit aux égalités :

$$\mathbf{A = T \quad \text{et} \quad C = G}$$

Le rapport $\frac{(A+T)}{(C+G)}$ est variable selon les espèces. Par ailleurs, ce rapport est supérieur à 1 chez les animaux et les végétaux ; il est compris entre 0,35 et 2,70 chez les bactéries.

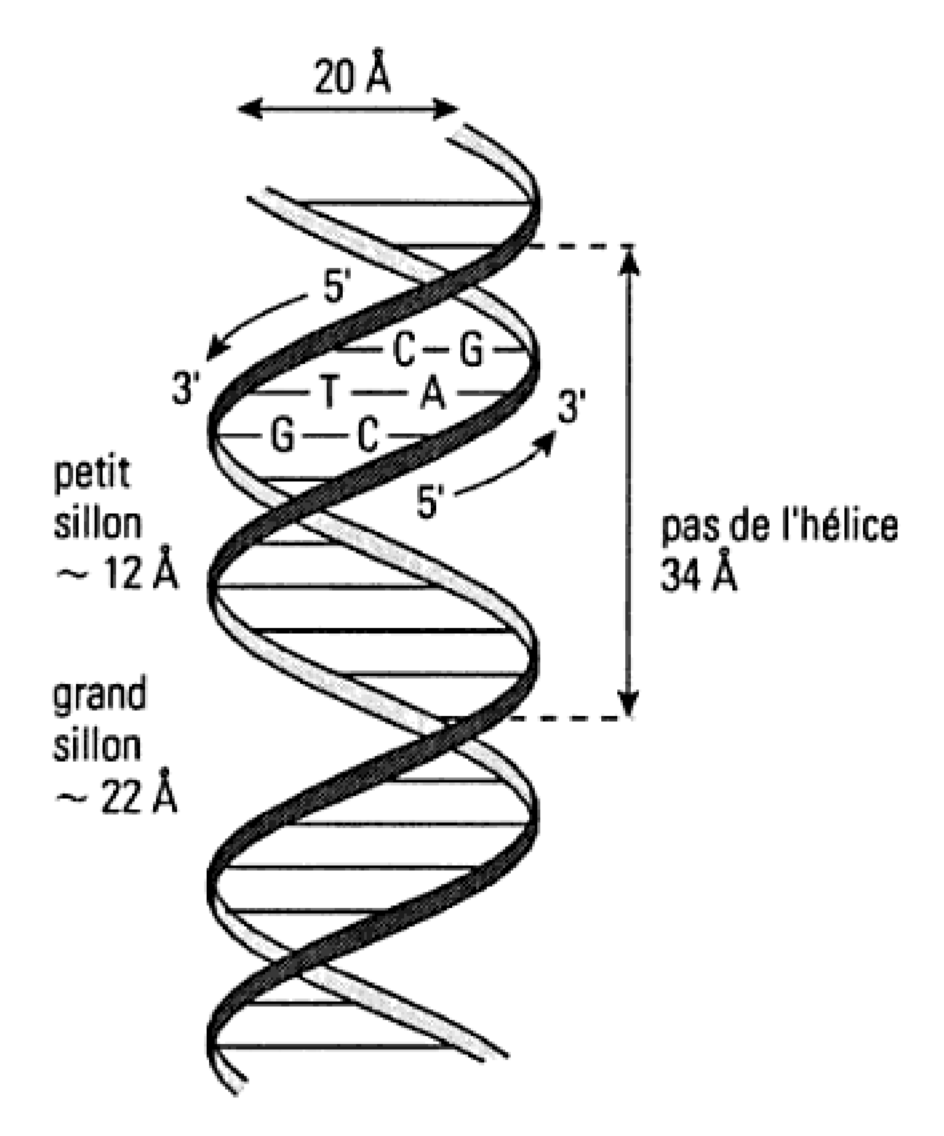


Fig. 3 – La double hélice de l'ADN selon le modèle de Watson et Crick.

Copyrighted material



La chaîne d'ADN bicaténaire forme une **double hélice** ; la caractérisation de cette structure hélicoïdale a été réalisée par **Watson et Crick** par diffraction des rayons X (figure 3). La distance inter-bases est de 3,4 Å, chaque spire comprend 10 bases, soit un pas constant de 34 Å, et le diamètre externe mesure 20 Å ; les radicaux phosphate occupent l'extérieur de la double hélice et les bases l'intérieur. On distingue deux sillons : le petit situé entre les polymères de nucléotides et le grand qui sépare deux tours de spire.

La séparation des deux brins de l'ADN peut être réalisée par l'action d'agents biologiques ou physico-chimiques. Ainsi, par chauffage progressif, la **dénaturation** ou **fusion** de l'ADN est obtenue ; sa viscosité diminue et son absorption UV à 260 nm augmente (effet hyperchrome). La température de fusion dépend de la teneur en (G + C). La **renaturation** s'obtient par refroidissement lent.

1.2. Différentes formes d'ADN

La plus stable est la **forme B** (Watson et Crick) dans laquelle les bases sont perpendiculaires à l'axe de la double hélice. Dans la **forme A,** les bases sont inclinées sur l'axe ; il y a augmentation du nombre de bases (11 par tour) et le pas de l'hélice est égal à 28 Å. Les formes A et B sont dextrogyres. Il existe en outre une **forme Z,** lévogyre, ne comportant qu'un seul sillon ; le nombre de bases par tour est égal à 12 et le pas de l'hélice est égal à 45 Å. *In vivo*, la molécule d'ADN se trouve sous une forme plus compacte, circulaire à brins super enroulés chez les procaryotes, sous forme de complexe ADN-protéine, la **chromatine** chez les eucaryotes.

2. Acides ribonucléiques (ARN)

Les acides ribonucléiques sont essentiellement localisés dans le cytoplasme. Ce sont aussi des macromolécules de masse molaire élevée pouvant dépasser $1{,}3 \cdot 10^6$ Da. Leur structure est radicalement différente de celle de l'ADN : leur ose est le **ribose,** la thymine est remplacée par l'**uracile** et ils sont **monocaténaires**. L'ultracentrifugation en gradient de concentration de saccharose permet d'en distinguer trois types : les ARN de transfert (15 %), les ARN ribosomaux (80 %) et les ARN messagers (5 %).

2.1. ARN de transfert (ARNt)

Les ARN de transfert sont de petites molécules en forme de trèfle constituées de 75 à 90 monomères (figure 4). Leur masse molaire est de l'ordre de $3 \cdot 10^4$ Da ; on les trouve à l'état dissous dans le cytoplasme et le noyau. Leur composition se caractérise par un fort pourcentage de bases modifiées. Ils assurent le transport des acides aminés vers le site de biosynthèse des protéines ; le bras inférieur contient l'**anticodon** complémentaire du **codon** (séquence de 3 bases) présent sur l'ARN messager. L'extrémité 3'-OH ou bras accepteur est le site de fixation d'un aminoacide codé par le codon reconnu.

Copyrighted material



grosse sous-unité
f-Met
Site P
Site A
UAC
AUG
ARNm
5'
3'
petite sous-unité
codon start
(A)

f-Met ser
UACAGA
5' AUGUCUUUU 3'
ARNt libéré
f-Met ser
UAC
AGA
5' AUGUCUUUU 3'
(B)

f-Met ser
AGA
5' AUGUCUUUU 3'
(C)

f-Met ser Met Gly
GCU
RF
5' AUGCGAUAG 3'
codon stop
H_3^+N—f-Met—ser---Met—Gly—COO^-
polypeptide
GCU
5' AUGCGAUAG 3'
(D)

Fig. 6 – Synthèse des protéines : traduction
A – initiation ; B – élongation ; C – translocation ; D – terminaison.

Copyrighted material

Le premier codon traduit est **AUG** qui code la N-formyl-méthionine, f-Met (chez les eucaryotes, il code la méthionine) : ce codon est appelé **codon d'initiation** ou **codon start**.

En présence de facteurs d'initiation, **IF**, il se forme un **complexe d'initiation** entre le f-Met-ARNt et le site P du ribosome.

– **Élongation**

Un deuxième ARNt activé se positionne alors dans le site A. Ce processus implique un facteur d'élongation **EF-T** et du GTP. Une liaison peptidique s'établit entre les deux acides aminés grâce à une *peptidyl-transférase.* La formation de cette liaison s'accompagne de la libération du premier ARNt.

Le ribosome se déplace alors d'une longueur de trois bases sur l'ARNm et le deuxième ARNt passe du site A au site P. Ce mécanisme complexe est appelé **translocation**.

– **Terminaison**

Elle se produit lorsqu'un **codon de terminaison** ou **codon stop** arrive dans le site A. Ils sont au nombre de trois : UAG, UAA et UGA ; aucun ARNt ne possède d'anti-codon complémentaire. Le site A est alors occupé par un facteur de libération (release factor **RF**) qui, par activation d'une *peptidyl-transférase,* provoque la libération du polypeptide.

Copyrighted material

Les lipides (1) Acides gras et lipides simples



Les lipides sont des constituants biologiques essentiels très variés.

Tous les lipides sont caractérisés par une même propriété physique : **insolubles** dans l'eau, ils sont **solubles** dans les solvants organiques non polaires.

Ils ont des propriétés biologiques importantes : ils sont les formes de réserve et de transport des métabolites énergétiques, des matériaux de structure des membranes et de protection des organismes, des précurseurs de substances à forte activité biologique (hormones, vitamines) et participent en tant que constituants de la surface de la cellule, à sa reconnaissance.

On distingue deux familles structurales :

– **esters** ou **amides d'acides gras** (lipides vrais simples ou complexes),

– composés à caractère lipidique : **eicosanoïdes** (prostaglandines) et **isoprénoïdes** (terpènes, quinones respiratoires, vitamines liposolubles, stéroïdes).

1. Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques comportant une chaîne aliphatique. Le nombre total **n** d'atomes de carbone est pair et égal ou supérieur à quatre. La chaîne carbonée est **hydrophobe** et le groupe carboxylique **hydrophile**. À partir de n = 10, les acides gras sont **insolubles dans l'eau** ; ils s'associent alors pour former des **micelles**, le pôle hydrophile étant dirigé vers l'eau et le pôle hydrophobe vers l'intérieur de la micelle. À l'interface eau-air, les acides gras constituent un **film** monomoléculaire ; les pôles hydrophiles sont tournés vers l'eau (cf. fiche 3).

1.1. Acides gras saturés

La chaîne aliphatique est saturée. Leur température de fusion augmente avec le nombre n d'atomes de carbone :

– acide butanoïque ou acide butyrique (n = 4) :

$$CH_3-(CH_2)_2-COOH \; ; \; \theta_f = -8\ °C$$

– acide n-octodécanoïque ou acide stéarique (n = 18) :

$$CH_3-(CH_2)_{16}-COOH \; ; \; \theta_f = +69\ °C.$$

1.2. Acides gras insaturés

Ils sont plus abondants que les acides gras saturés. Leur température de fusion est inférieure à celle de l'acide gras saturé de même nombre d'atomes de carbone et diminue lorsque le nombre d'insaturations augmente :

– acide stéarique (18 :0) : $\theta_f = +69$ °C

– acide oléique (18 :1) : $\theta_f = +14$ °C

Copyrighted material



– acide linoléique (18 :3) : $\theta_f = +11\ °C$.

Leur chaîne carbonée possède au moins une double liaison. La configuration Z ou E de celle-ci impose la géométrie de la chaîne carbonée (cf. fiche 2).

Les acides gras naturels ont généralement une configuration Z.

Lorsqu'il y a plusieurs doubles liaisons, celles-ci, toujours distantes de trois atomes de carbone, sont dites en position malonique (acide malonique ou acide propane dioïque $HOOC-CH_2-COOH$). Le nombre de doubles liaisons est indiqué à la suite du nombre d'atomes de carbone ; ainsi, l'acide linoléique qui comporte 18 atomes de carbone et 3 doubles liaisons est noté 18 : 3.

Deux méthodes sont utilisées pour indiquer la position d'une double liaison :

(i) Δ^9 indique une double liaison située entre les atomes de carbones 9 et 10 en accord avec la nomenclature (numérotation à partir du carbone de la fonction acide),

(ii) $\omega - 9$ indique une double liaison sur le carbone 9 à partir de la position ω (dernier carbone de la chaîne aliphatique).

Ainsi, un dérivé de l'acide palmitique 16:0, est l'acide palmitoléique 16:1, Δ^9 ou $\omega - 7$ de formule $CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$.

1.3. Propriétés des acides gras

Quelques propriétés chimiques caractéristiques des acides gras insaturés permettent de les caractériser :

– l'hydrogénation (en présence d'un catalyseur) des huiles végétales entraîne un durcissement et la formation de margarines ; celle des graisses animales produit des succédanés du lard,

– l'oxydation par le dioxygène de l'air entraîne le rancissement et la siccativité (polymérisation de l'huile de lin).

– l'**indice d'iode** est la masse (exprimée en grammes) de diiode fixée par addition à 100 g de graisse en solution chloroformique.

La formation d'esters avec un alcool permet la synthèse de lipides simples (glycérides, cérides et stérides) ou de lipides complexes (glycérophospholipides, glycéroglycolipides). La formation d'un amide avec une amine permet la synthèse d'autres lipides complexes (sphingolipides).

Les savons sont des sels de sodium ou de potassium des acides gras. Ils constituent des **films** (à faible concentration) ou des **micelles** (à forte concentration). La « concentration » micellaire critique pour la transition est de 50 à 60 molécules par micelle.

De nombreux acides gras ne sont pas synthétisés par l'homme, alors qu'ils ont une grande importance physiologique, ce sont les **acides gras indispensables** ou **essentiels**. Il s'agit d'acides gras polyinsaturés tels les acides linoléique et arachidonique. Leur première double liaison est en (n – 6) ou

Copyrighted material



De nombreux composés biologiques importants sont des dérivés des stérols : citons les hormones stéroïdes, les acides biliaires, les vitamines D (figure 4).

CH_3

CO

O

progestérone

HO

vitamine D_2 (ergocalciférol)

OH

O

testostérone

OH

HO

œstradiol

Fig. 4 – Dérivés des stérols.

Copyrighted material

Fiche 18 Les lipides (2) Lipides complexes et composés apparentés

1. Lipides complexes

Les lipides complexes comprennent au moins un hétéroatome et sont formés par réaction d'un acide gras avec le glycérol ou une diol-amine (sphingosine chez les animaux, 4-hydroxysphinganine chez les végétaux).

1.1. Glycérophospholipides

Ils résultent de l'estérification de deux des fonctions alcool (en C1 et C2) du *sn*-glycérol par des acides gras et de la troisième fonction alcool par l'acide phosphorique :

```
                                  O
                                  ||
          O        CH2—O—C—R1
          ||        |
R2—C—O—CH
                    |
                   CH2—O—PO3(2-)
```

exemple de composé obtenu à partir du *sn*-glycérol

Les composés résultants ont des propriétés acides, ce sont les **acides phosphatidiques**. On les rencontre principalement dans les végétaux ; cependant, en petite quantité, ils jouent aussi un rôle métabolique important chez les animaux.

Des dérivés plus complexes que les acides phosphatidiques existent ; ils mettent en jeu les fonctions acides du groupe phosphate. On distingue :

– les **cardiolipides** (présents dans les mitochondries du muscle cardiaque), qui résultent de l'estérification d'une fonction acide d'un acide phosphatidique par une molécule de glycérol estérifiée par un second acide phosphatidique :

```
                                                  O⁻
                                                  |
R1—COO—CH2                    CH2—O—P—O—CH2
              |                              |        ||       |
R2—COO—CH          O         CHOH   O      CH—OCO—R4
              |            ||         |                      |
             CH2—O—P—O—CH2                    CH2—OCO—R3
                            |
                           O⁻
```

– les **phosphatidylinositols** qui résultent de l'estérification d'une fonction acide de l'acide phosphorique par l'inositol (en C1) (figure 1) ou un inositol-phosphate (en C4, C5 et C3).

Copyrighted material

Fig. 1 – Un phosphatidyl inositol : inositol présent sous forme de son stéréoisomère principal, le myo-inositol. AcP représente l'acide phosphatidique.

– les **glycérophospholipides azotés** ou **phosphoaminolipides** qui sont obtenus par estérification d'une fonction acide de l'acide phosphorique par un amino-alcool. Avec la sérine ou l'éthanolamine, on obtient les **céphalines** abondantes dans le cerveau.

$AcP{-}CH_2{-}CH{-}(NH_3^+){-}COO^-$ — phosphatidylsérine

$AcP{-}CH_2{-}CH_2{-}NH_3^+$ — phosphatidyléthanolamine

Avec la choline, on obtient les **lécithines** :

$$AcP{-}CH_2{-}CH_2{-}N^+(CH_3)_3$$

phosphatidylcholine

parmi lesquelles on rencontre le surfactant des alvéoles pulmonaires et des constituants des lipoprotéines circulantes.

Associés à des stérols et à des protéines, les phosphoaminolipides constituent des structures membranaires. Les lécithines, électriquement neutres, participent à la couche externe, les phosphatidyl-sérines, anioniques, à la couche interne.

L'hydrolyse des phosphoaminolipides en milieu biologique requiert des phospholipases spécifiques telles celles trouvées dans le venin de serpent.

1.2. Glycéroglycolipides

La fonction alcool en C3 du glycérol forme une liaison glycosidique avec le carbone C1 d'un ose (figure 2) ; les fonctions alcool en C1 et C2 sont estérifiées par des acides gras. Ces lipides sont essentiellement présents dans les **thylacoïdes** des **chloroplastes** (cf. fiche 20).

Copyrighted material

Fig. 2 – 1, 2- diacyl-[β-D-galactosyl-1′-3]-*sn*-glycérol.

1.3. Sphingolipides

Dans ces composés, semblables aux phosphoaminolipides, le glycérol est remplacé par la **sphingosine** (dérivé de la sphinganine):

$$CH_3-(CH_2)_{12}-CH=CH-CHOH-CH(NH_2)-CH_2OH$$

(configuration E)

Les principaux sont :

– Les **sphingomyélines** (figure 3), présentes dans les membranes plasmiques, qui participent à la constitution de la gaine de myéline autour des axones. La fonction alcool est estérifiée par la phosphocholine, la fonction amine forme un amide avec un acide gras.

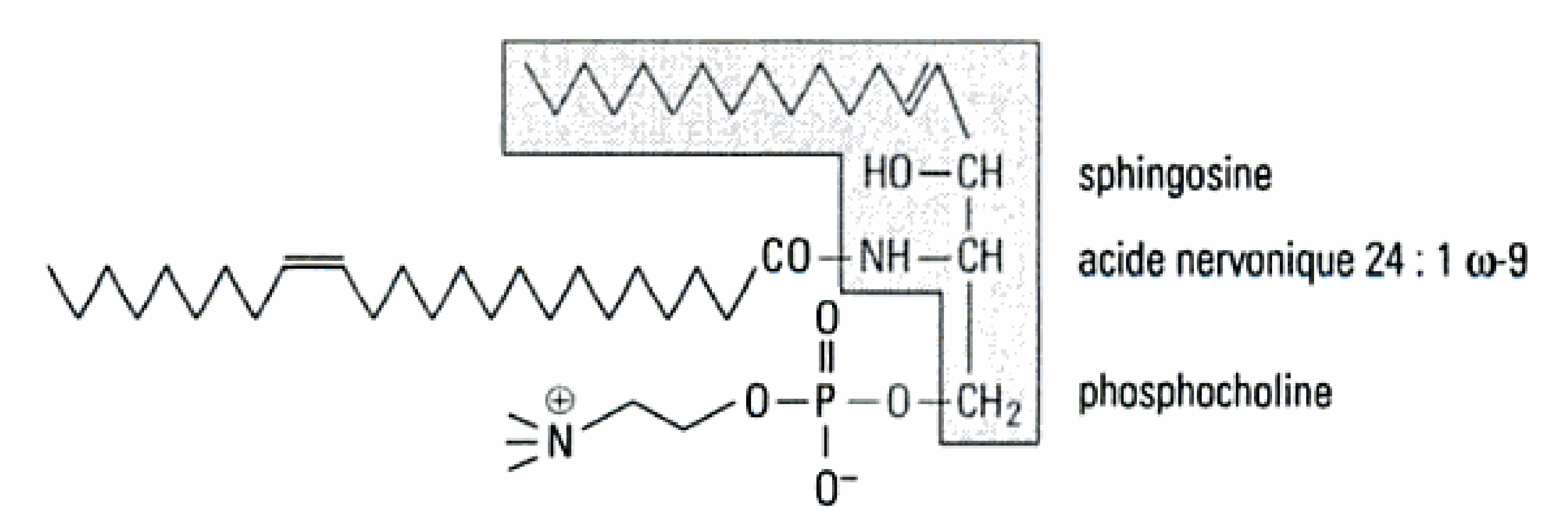


Fig. 3 – Une sphingomyéline.

– les **céramides** résultent de la formation d'une fonction amide entre la sphingosine et un acide gras (figure 4). Les sphingoglycolipides sont des acétals formés par réaction entre une céramide et un glucide. Dans les cérébrosides, la partie glucidique est constituée d'un seul résidu osidique (glucose ou galactose), et dans les gangliosides d'un oligoside.

Copyrighted material

Parmi les composés à chaîne isoprénique les plus importants, citons les transporteurs d'électrons (ubiquinone ou coenzyme Q dans les mitochondries, plastoquinone dans les chloroplastes) et les vitamines liposolubles A, E et K (figure 6).

ocimène (basilic) (monoterpène)
isoprène
α-carotène (tétraterpène)
OH vitamine A (rétinol)
O
O
n
plastoquinone

Fig. 6 – Isoprénoïdes.

Copyrighted material

Fiche 19 La glycolyse

La **glycolyse** (ou voie d'Embden-Meyerhof) est l'ensemble des réactions qui se déroulent dans le **cytosol** et permettent l'extraction d'énergie sous forme d'**ATP** et de **NADH** (impliqué dans les réactions d'oxydo-réduction) à partir du glucose.

1. Les différentes étapes de la glycolyse

La conversion du glucose peut être divisée en quatre grandes étapes et implique l'action de dix enzymes (figure 1).

– *Étape 1* : formation de **fructose 1-6-diphosphate** à partir du **glucose**. Elle comprend deux réactions de **phosphorylation** (*hexokinase* et *phosphofructokinase*) encadrant une **isomérisation** (*phosphoglucoisomérase*). Deux molécules d'ATP sont consommées.

– *Étape 2* : clivage en deux trioses-phosphate, la dihydroxyacetone-phosphate **DHAP** et le glycéraldéhyde-3-phosphate **G-3P** (*aldolase*). L'interconversion entre ces deux trioses (*triose-phosphate isomérase*) conduit à un équilibre : 96% de DHAP et 4% de G-3P. Seul le G-3P est utilisé dans la glycolyse.

– *Étape 3* : oxydation du G-3P en 3-phosphoglycérate **3-PGA** avec réduction d'une molécule de NAD^+ en NADH (*glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase*) et production d'une molécule d'ATP (*phosphoglycérate kinase*).

– *Étape 4* : conversion du 3-PGA en phosphoénolpyruvate (*phosphoglycérate mutase et énolase*) qui se transforme ensuite en **pyruvate** avec transfert d'un groupe phosphate à l'ADP et production d'une molécule d'ATP (*pyruvate kinase*).

Le dernier métabolite de la chaîne de réactions est le **pyruvate** $CH_3{-}CO{-}COO^-$ dont le devenir dépend des conditions de vie, aérobie ou anaérobie, de la cellule.

2. Bilan énergétique de la glycolyse

La transformation d'une molécule de glucose en fructose 1,6-diphosphate (étape 1) consomme deux molécules d'ATP. La transformation d'une molécule de triose phosphate produit une molécule de NADH (étape 3) et deux molécules d'ATP (étapes 3 et 4). Au total, la glycolyse, formation de deux anions pyruvate à partir d'une molécule de glucose, génère deux molécules de NADH et deux molécules d'ATP.

3. Devenir du pyruvate

Alors que la séquence des réactions de la glycolyse est très semblable dans tous les organismes, la transformation du pyruvate peut s'effectuer selon deux grandes voies en fonction des conditions.

Copyrighted material

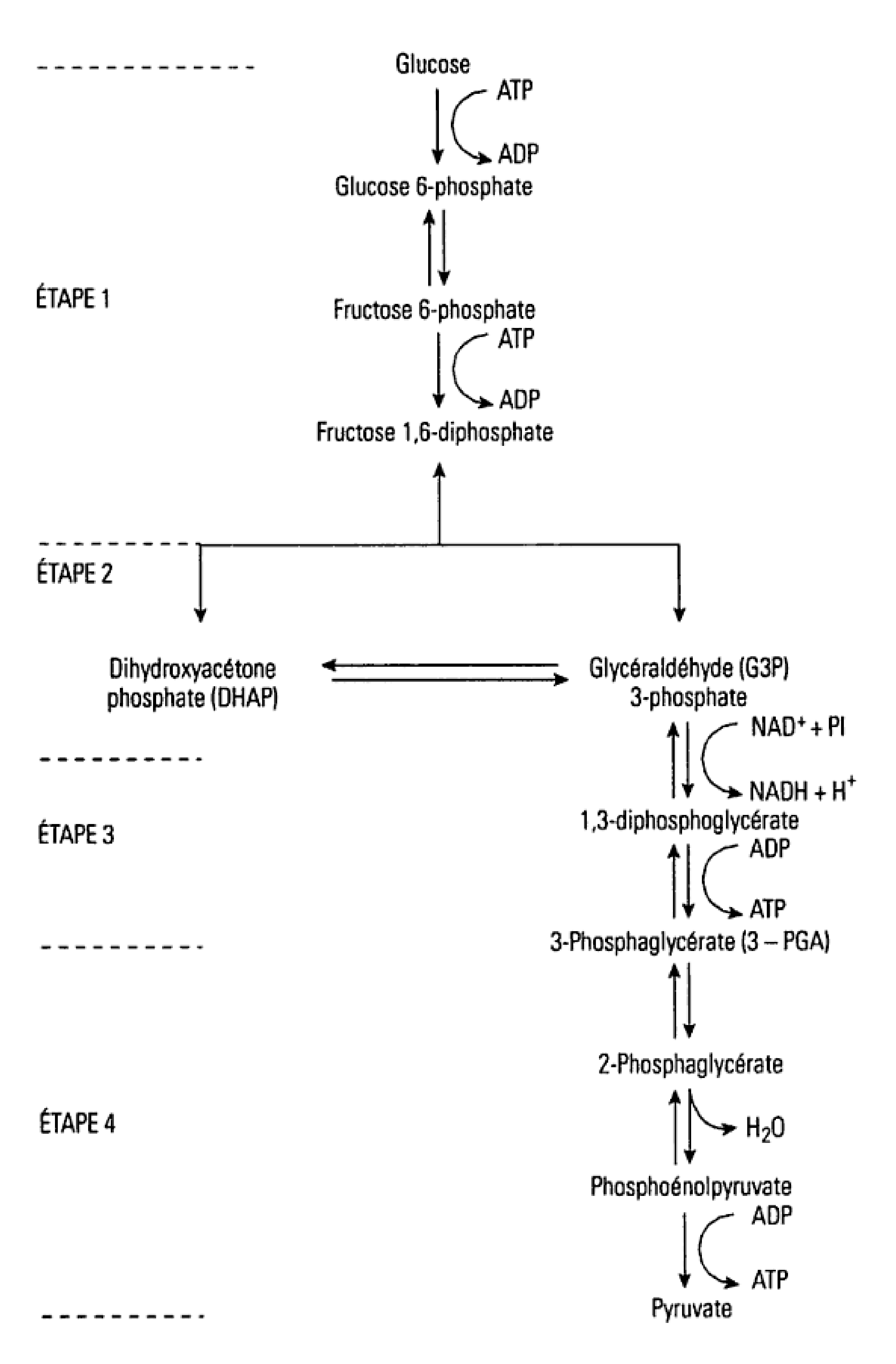


Fig. 1 – Étapes de la glycolyse.

Copyrighted material

3.1. Voie anaérobie : les fermentations

Dans les conditions anaérobies, le coenzyme oxydé NAD^+ est régénéré à partir du coenzyme réduit NADH par des réactions ne produisant pas d'énergie : **les fermentations.**

Les deux principales sont :

(i) la **fermentation lactique** qui s'effectue chez les micro-organismes et dans les cellules animales ayant un apport d'oxygène limité (par exemple les cellules musculaires):

$CH_3-CO-COO^- + NADH,H^+ \rightarrow CH_3-CHOH-COO^- + NAD^+$
en présence de *lactate déshydrogénase*

(ii) la **fermentation alcoolique** qui s'effectue chez les levures et certains micro-organismes:

$CH_3-CO-COO^- + H^+ \rightarrow CH_3-CHO + CO_2$
en présence de *pyruvate décarboxylase*

$CH_3-CHO + NADH,H^+ \rightarrow CH_3-CH_2OH + NAD^+$
en présence d'*alcool déshydrogénase*

D'autres fermentations sont observées chez les bactéries et produisent, outre l'éthanol, les acides méthanoïque, éthanoïque, propanoïque, butanoïque...

3.2. Voie aérobie : la respiration

Chez les organismes hétérotrophes qui tirent leur énergie des molécules nutriments, la **respiration** est le processus permettant la plus importante production d'énergie.

Copyrighted material

2. Cycle de Krebs (figure 2)

Le pyruvate, produit de la glycolyse (cf. fiche 19), pénètre dans la mitochondrie en formant une liaison avec un transporteur spécifique. Un ensemble de réactions catalysé par le complexe pyruvate déshydrogénase permet alors sa transformation en **acétylcoenzyme A** ou **acétyl CoA** :

$$CH_3-COS-CoA.$$

Le pyruvate subit d'abord une décarboxylation oxydante :

$$CH_3-CO-COO^- \rightarrow CH_3-COO^- + CO_2$$

couplée à la formation de NAD^+ réduit :

$$NAD^+ \rightarrow NADH,H^+$$

L'ion acétate formé se fixe sur un transporteur spécifique, le **coenzyme A (CoA)** dont le groupement actif est un groupe sulfhydrile (HS-CoA).

Cette transformation du pyruvate permet son entrée dans le **cycle de Krebs** qui comporte huit étapes (figure 2) :

Étape 1 : synthèse de citrate (en C6) à partir de l'oxaloacétate (en C4) et de l'acétyl CoA (en C2) (*citrate synthase*).

Étape 2 : isomérisation du citrate en isocitrate (*aconitase*).

Étape 3 : décarboxylation et oxydation de l'isocitrate en α-cétoglutarate avec production d'un NADH (*isocitrate déshydrogénase*).

Étape 4 : décarboxylation et oxydation de l'α-cétogutarate en succinyl CoA avec production d'un NADH (complexe *α-cétoglutarate déshydrogénase*).

Étape 5 : conversion du succinyl CoA en succinate avec synthèse de guanosine 5'-triphosphate (GTP) à partir de guanosine 5'-diphosphate (GDP) et de phosphate inorganique Pi chez les animaux (un ATP à partir d'un ADP et de Pi chez les végétaux) (*succinyl* CoA *synthétase*).

Étape 6 : oxydation du succinate en fumarate avec production de flavine adénine dinucléotide réduite $FADH_2$ (*succinate déshydrogénase*).

Étape 7 : conversion du fumarate en malate (*fumarase*).

Étape 8 : oxydation du malate en oxaloacétate avec production d'un NADH (*malate déshydrogénase*).

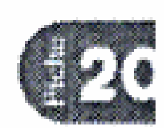
Le cycle permet la régénération de l'oxaloacétate avec production de deux molécules de CO_2.

Il se produit en outre :

– la réduction de coenzymes : trois nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) et une flavine adénine dinucléotide (FAD) ;

– la phosphorylation d'une molécule de guanosine di-phosphate (GDP).

Copyrighted material



Acétyl CoA $CH_3-C(=O)-S-CoA$

Citrate $COO^- - CH_2 - C(OH)(COO^-) - CH_2 - COO^-$

Isocitrate

α-Cétoglutarate

Succinyl-CoA

Succinate

Fumarate

Malate

Oxaloacétate

① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧

NAD^+ NADH CO_2 GDP + Pi GTP CoA FAD $FADH_2$ H_2O

Fig. 2 – Étapes du cycle de Krebs.

Le cycle de Krebs permet également de métaboliser la plupart des molécules énergétiques qui intègrent celui-ci sous forme d'acétylcoenzyme A (figure 3) :

– les lipides sont décomposés dans le cytosol en glycérol et acides gras. Les dérivés à courte chaîne traversent la membrane mitochondriale par diffusion ; le transport des dérivés à longue chaîne nécessite une conjugaison avec la L-carnitine et l'intervention d'enzymes spécifiques. Les acides gras entrés dans la mitochondrie subissent une dégradation séquentielle (hélice de Lynen) et sont transformés en acétylcoenzyme A.

– la dégradation des aminoacides est plus complexe ; la fonction amine est d'abord éliminée puis le squelette carboné est transformé en acétylcoenzyme A.

Copyrighted material

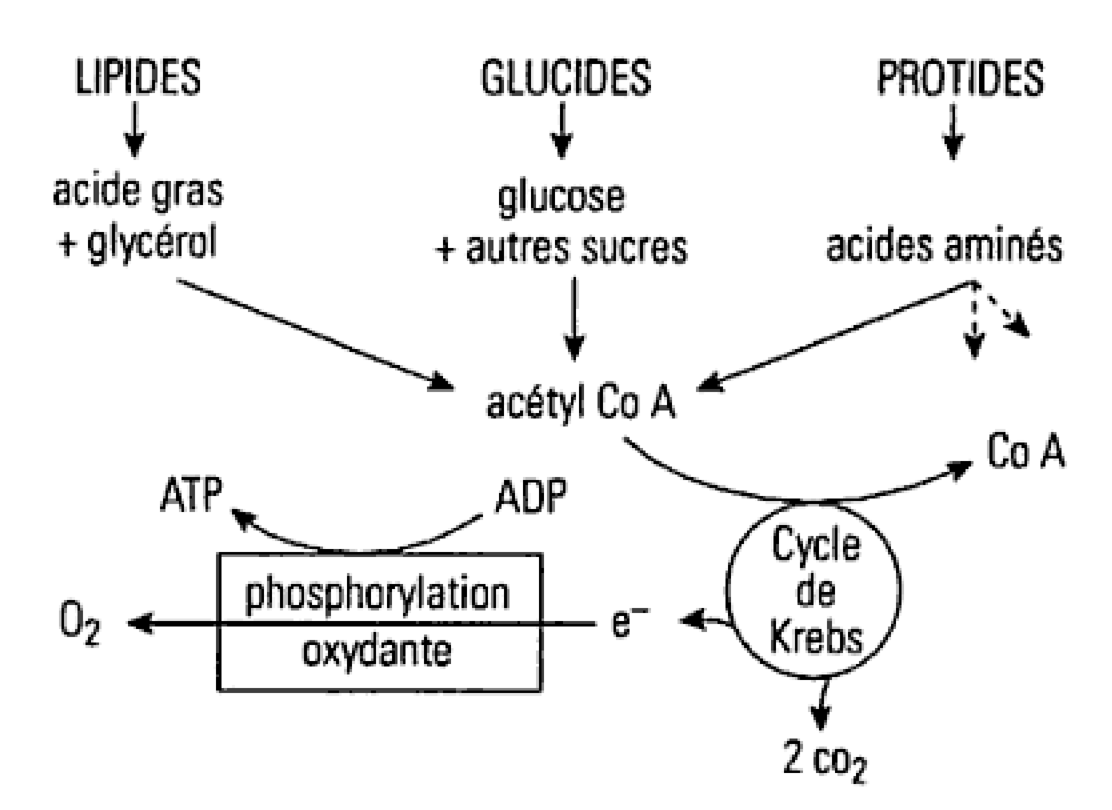


Fig. 3 – Schéma du processus métabolique des molécules énergétiques.

3. Chaîne respiratoire

À chaque tour du cycle de Krebs, une molécule d'ATP est formée au cours de la transformation du GTP en GDP. La plus grande partie de l'énergie récupérée est stockée sous forme de coenzymes réduits, NADH et $FADH_2$. Ces derniers sont pris en charge par la **chaîne respiratoire** où ils sont réoxydés. La régénération des coenzymes sous forme oxydée résulte d'un transfert d'électrons vers le dioxygène via la **chaîne de transporteurs** appelée **chaîne respiratoire**. Parallèlement se crée un gradient de protons dans l'espace intermembranaire. C'est la création de ce gradient de protons qui fournit l'énergie nécessaire, en fin de chaîne, à la synthèse d'ATP à partir de l'ADP ou **phosphorylation oxydante** (figure 4).

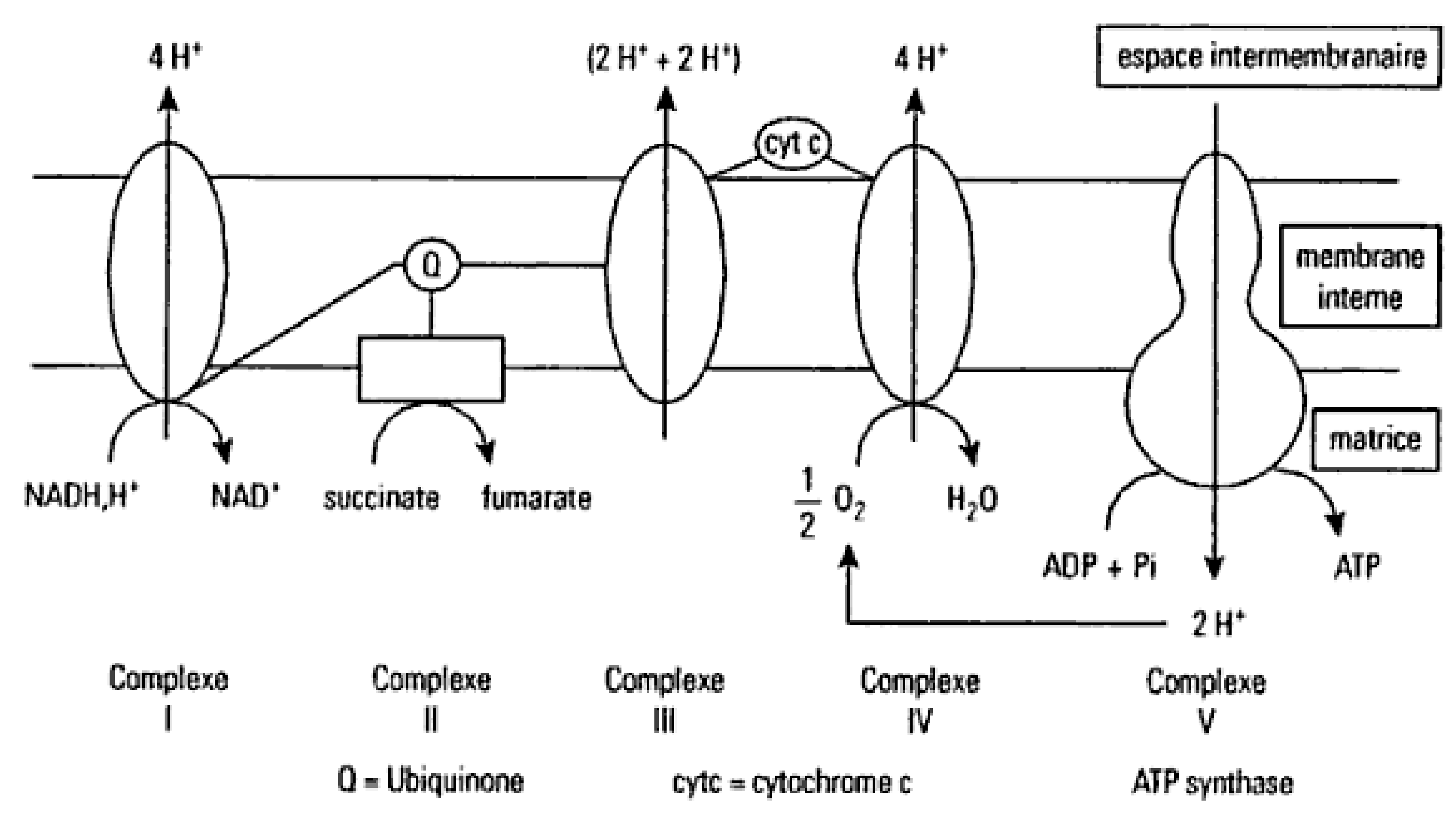


Fig. 4 – Chaîne respiratoire et synthèse de l'ATP.

Copyrighted material



3.1. Description de la chaîne respiratoire mitochondriale

La chaîne respiratoire se compose d'un ensemble de quatre complexes protéiques inclus dans la membrane interne des mitochondries et de deux cofacteurs mobiles :

– **complexe I** : NADH-coenzyme Q (ubiquinone)

Le **NADH, H^+** est oxydé par cession de deux électrons à la flavine mononucléotide (FMN) et par intervention d'une chaîne de centres fer-soufre (FeS) (transfert des électrons un par un). Ce transfert d'électrons fournit l'énergie permettant le transport de quatre à cinq protons vers l'espace intermembranaire. Finalement, l'ubiquinone Q est réduite en ubiquinol QH_2 qui diffuse dans la bicouche lipidique de la membrane (figure 5).

ubiquinone   ubiquinol

Fig. 5 – Le coenzyme Q (ubiquinone) et sa forme réduite (ubiquinol).

– **complexe II** : succinate-coenzyme Q

Il s'y produit l'oxydation (perte de deux électrons) du **$FADH_2$** via une chaîne de centres FeS (transfert des électrons un par un) puis la réduction du coenzyme Q qui diffuse dans la bicouche lipidique de la membrane.

– **complexe III** : coenzyme Q-cytochrome c

Il s'y produit l'oxydation de l'**ubiquinol** (produite par action des complexes I et II) en **ubiquinone** avec libération de deux protons dans l'espace intermembranaire. Les deux électrons cédés sont transférés au **cytochrome** c via un cycle complexe faisant intervenir les cytochromes b et c1, un centre FeS et une seconde molécule d'ubiquinone. Ce transfert d'électrons permet le passage de deux autres protons dans l'espace intermembranaire. Enfin, le cytochrome c, très mobile, transporte les deux électrons un par un, sur la surface externe de la membrane vers le complexe IV.

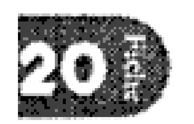
Au total, dans cette étape, quatre protons sont transportés vers l'espace intermembranaire.

– **complexe IV** : cytochrome oxydase

Il contient deux cytochromes (a et a_3) liés chacun à un atome de cuivre. Après réduction totale du complexe (quatre électrons apportés par le cytochrome c), se produit la fixation d'une molécule de dioxygène qui est réduite avec formation de deux molécules d'eau :

$$4\text{cyt c}(Fe^{2+}) + 4H^+ + O_2 \rightarrow 4\text{cyt c}(Fe^{3+}) + 2H_2O$$

Copyrighted material



L'énergie fournie par le transfert d'électrons permet le transport de quatre protons vers l'espace intermembranaire.

Diverses substances peuvent bloquer le transport d'électrons et donc inhiber la chaîne respiratoire ; citons la roténone et l'amytal qui agissent au niveau d'une NADH déshydrogénase, l'antimycine A au niveau du complexe cytochrome bc1, le cyanure, le nitrure et le monoxyde de carbone au niveau d'une *cytochrome oxydase*.

3.2. Synthèse de l'ATP

La **synthèse de l'ATP** ou **phosphorylation oxydante** s'effectue, à partir d'ADP et de phosphate inorganique Pi. Cette synthèse est réalisée au niveau du complexe mitochondrial ATPasique (**complexe V** ou ATP *synthase*) comprenant une partie membranaire (membrane interne de la mitochondrie) et une tête globulaire intra-matricielle (corpuscule de Green) ; l'ATP*ase* est localisée dans la tête globulaire.

L'explication du mécanisme de cette réaction de phosphorylation repose sur l'hypothèse **chimio-osmotique** de Mitchell dans laquelle il n'y a pas formation d'intermédiaire phosphorylé. Le transfert d'électrons le long de la chaîne respiratoire est un **processus vectoriel** ; l'énergie libérée sert à générer un gradient de protons à travers la membrane interne de la mitochondrie (espace intermembranaire plus acide). En bout de chaîne, le complexe V laisse les protons revenir vers la matrice, l'énergie produite permettant la phosphorylation de l'ADP. Enfin, le passage de l'ATP à travers les membranes s'effectue grâce à deux protéines de transport.

Au total, l'oxydation d'un NADH permet la synthèse de trois ATP, l'oxydation d'un $FADH_2$ permet celle de deux ATP. Notons que certaines études donnent des résultats un peu différents : 2,5 ATP par NADH et 1,5 ATP par $FADH_2$.

Les réactions d'oxydo-réduction des complexes I à IV sont toutes exergoniques, seule la synthèse de l'ATP est endergonique.

4. Bilan énergétique de la respiration

La transformation du pyruvate en acétyl CoA s'accompagne de la formation d'un NADH ; le cycle de Krebs permet la formation de trois NADH, un $FADH_2$ et un GTP. Les quatre NADH correspondent à douze ATP, le $FADH_2$ à deux ATP et le GTP à un ATP, soit un total de **quinze ATP par ion pyruvate**.

Copyrighted material

Fiche 21 La photosynthèse

La **photosynthèse** est un processus spécifique des végétaux : plantes vertes, algues et certaines bactéries photosynthétiques. Elle permet la synthèse de glucides à partir de dioxyde de carbone et d'eau en utilisant l'énergie lumineuse :

$$nCO_2 + nH_2O \xrightarrow{h\nu} (CH_2O)_n + nO_2$$

Les végétaux, capables de transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique, sont dits **autotrophes,** alors que les animaux dont l'énergie provient de l'oxydation de substrats organiques au cours de la respiration sont dits **hétérotrophes.**

Chez les végétaux supérieurs et les algues, la photosynthèse s'effectue dans des organites spécialisés, les **chloroplastes** ; chez les bactéries photosynthétiques, elle s'effectue au niveau de la membrane plasmique ou de ses invaginations, les **chromatophores.**

Les réactions de la photosynthèse se déroulent en deux phases distinctes :

– la **phase claire** utilise l'énergie lumineuse pour synthétiser le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) et l'adénosine triphosphate (ATP) ;

– la **phase sombre** utilise le NADPH et l'ATP pour synthétiser des glucides à partir du dioxyde de carbone CO_2 et de l'eau H_2O.

1. Localisation

1.1. Description d'un chloroplaste

Le chloroplaste (figure 1) est un organite de forme lenticulaire assez volumineux (3 à $10 \cdot 10^{-6}$ m). Comme la mitochondrie, il est limité par une double membrane, mais la membrane interne est régulière, délimitant un espace intermembranaire d'épaisseur constante. Le **stroma,** dense, renferme un grand nombre d'inclusions : des nucléoïdes contenant de l'ADN, des ribosomes, des globules denses, des grains d'amidon et des **thylacoïdes.**

Les thylacoïdes constituent un système membranaire totalement indépendant de la membrane interne. Ils se présentent sous forme d'amas discoïdes constituant des **grana** (thylacoïdes granaires) et de longs filaments intergranaires. L'ensemble constitue un compartiment thylacoïde unique ou **lumen.** La chaîne de transport d'électrons et l'ATP*synthase* se situent dans la membrane des thylacoïdes.

Copyrighted material



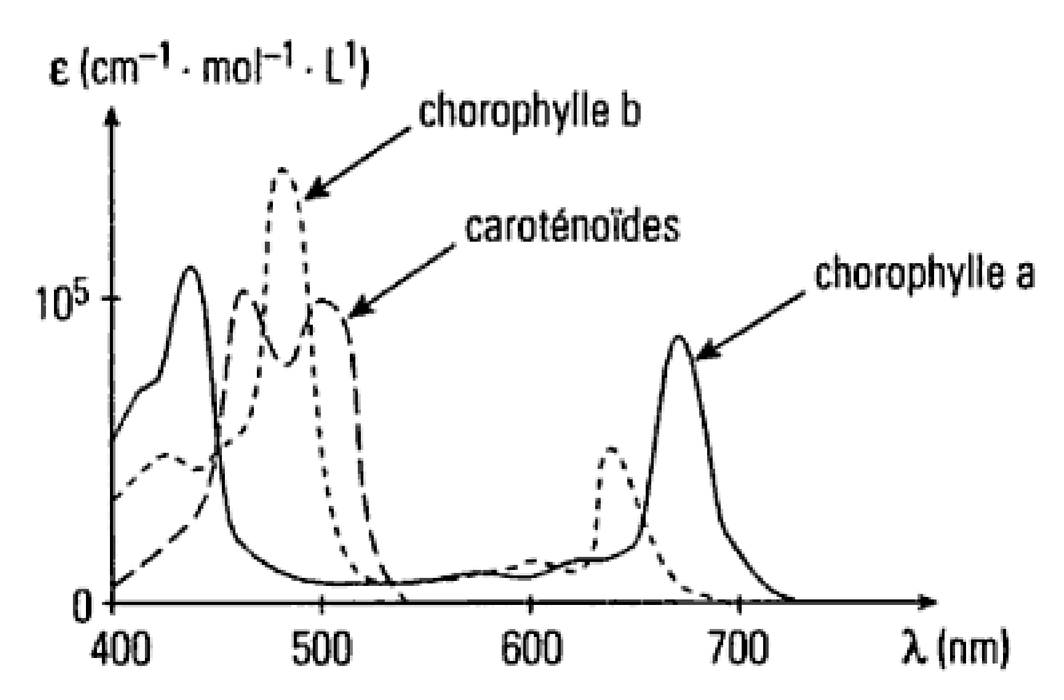


Fig. 3 – Spectres d'absorption des chlorophylles a et b et des caroténoïdes.

L'**absorption** d'un photon d'énergie hυ par la chlorophylle permet le transfert d'un **électron** de son état fondamental vers un niveau excité de plus haute énergie.

Le retour à l'état initial stable peut s'effectuer par :

– conversion interne (dissipation de chaleur),

– émission d'un photon,

– transfert d'énergie à un autre pigment, proche, et dont la longueur d'onde d'absorption est supérieure à celle du pigment excité,

– transfert d'un électron à un accepteur (ceci seulement pour la chlorophylle a, qui est donc oxydée).

1.3. Les photosystèmes

La capture d'énergie lumineuse s'effectue dans des **photosystèmes (PS)**. Les plantes vertes et les algues possèdent deux photosystèmes **PS I** et **PS II** ; chacun est constitué d'une **antenne collectrice** (complexe pigments-protéines) et d'un **centre réactionnel**. Chaque photosystème est caractérisé par la longueur d'onde à laquelle fonctionne le centre réactionnel : le **PS I** a son maximum d'absorption à 700 nm (on le désigne par **P700**), le **PS II** à 680 nm (on le désigne par **P680**). Les deux photosystèmes sont liés par une chaîne de transporteurs d'électrons. Le P680 oxyde l'eau en dioxygène.

2. Différentes étapes de la photosynthèse

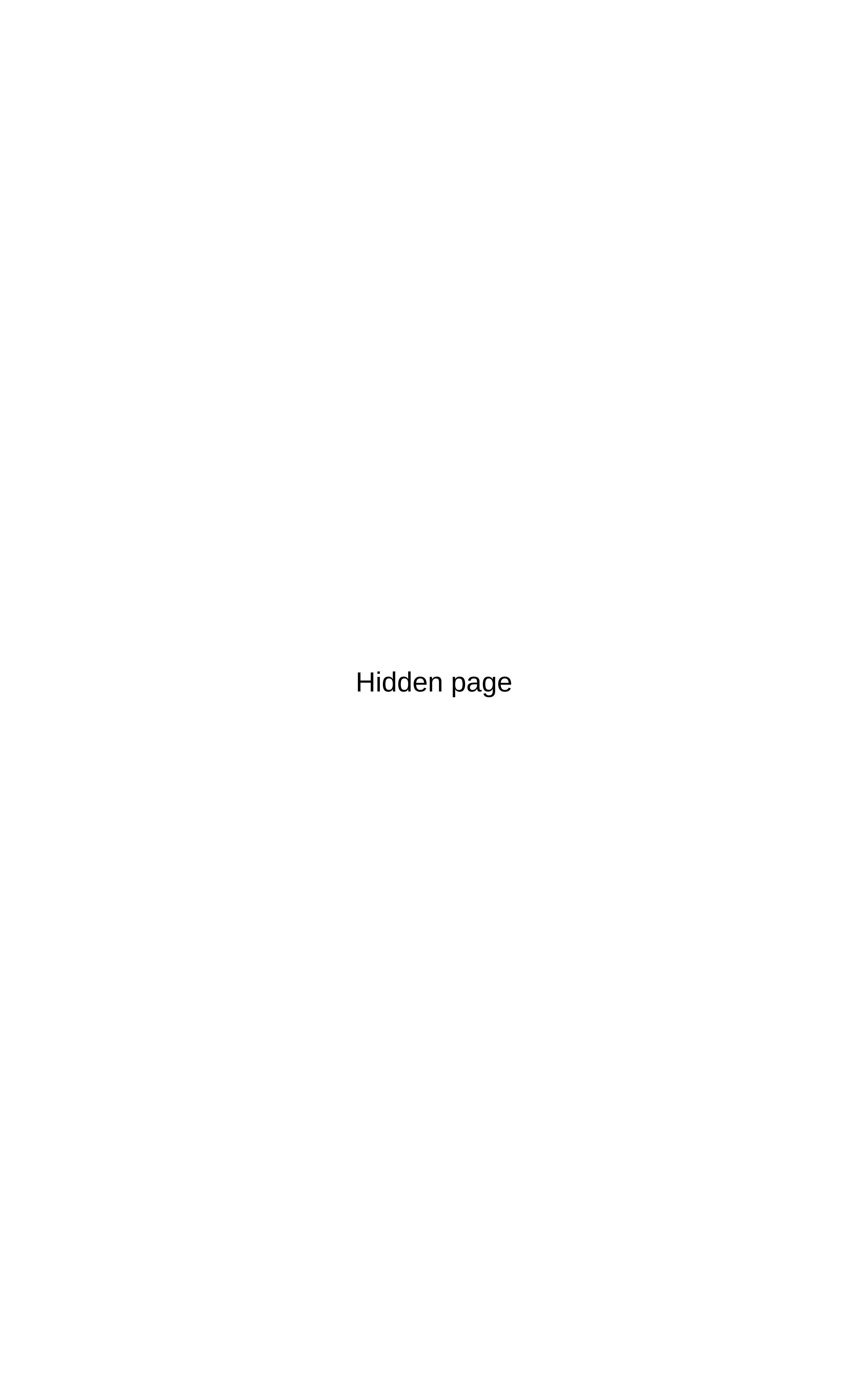
2.1. Phase claire

Au cours de la phase claire, le transfert d'électrons conduisant à la synthèse d'ATP peut se dérouler selon deux voies distinctes (figure 4) :

– un trajet non cyclique, dit en Z, impliquant les deux centres réactionnels P680 et P700 et conduisant à la production d'ATP et de NADPH,

– un trajet cyclique n'impliquant que le P700 et ne produisant que de l'ATP.

Copyrighted material


Hidden page



Deux électrons sont nécessaires à la réduction de la plastoquinone qui devient **PQH_2**. Les électrons suivent alors une chaîne de transporteurs intramembranaires : **complexe cytochrome b6-f** (pompe à protons) et **plastocyanine PC** (protéine contenant l'ion cuivrique Cu^{2+} qui est réduit en ion cuivreux Cu^+).

La réduction de quatre cations $P680^+$ par l'eau permet le retour à l'état stable P680 et la formation d'une molécule de dioxygène :

$$4\ P680^+ + 2\ H_2O = 4\ P680 + 4\ H^+ + O_2$$

La formation d'une molécule de dioxygène nécessite donc l'absorption de quatre photons.

L'absorption d'énergie lumineuse par la chlorophylle de l'antenne du PS I entraîne l'excitation du centre réactionnel P700 qui devient **P700***. Ce dernier forme le cation $P700^+$ par émission d'un électron qui est transféré à une **ferredoxine Fd** par l'intermédiaire d'un centre fer-soufre FeS.

Les électrons sont transférés au $NADP^+$ pour donner du NADPH en présence de NADP *réductase*.

Le cation **$P700^+$** retourne à l'état stable P700 par réduction aux dépens de la plastocyanine réduite.

Parallèlement, se constitue un gradient de protons dans le lumen (transfert à partir du stroma) par action de la pompe à protons du complexe cytochrome b6-f et oxydation de l'eau par le PSII. Ce gradient permet la synthèse d'ATP au niveau des ATP-synthases dont les têtes globulaires sont situées dans le stroma.

2.1.2. Photophosphorylation cyclique

Lorsque la quantité de $NADP^+$ disponible est insuffisante, une voie alternative permet la synthèse d'ATP sans production de NADPH. Cette voie ne fait intervenir que le PSI. Ce processus cyclique met en jeu le complexe cytochrome b6-f qui reçoit l'électron de la ferredoxine ; après transfert à une plastoquinone, l'électron retourne au P700.

Un gradient de protons est généré par le cytochrome b6-f, permettant la synthèse d'ATP. Il n'y a alors ni production de NADPH, ni production de O_2.

2.2. Phase sombre

La phase sombre correspond aux réactions de **synthèse des glucides** (fixation du carbone) et se déroule dans le stroma. Ces réactions utilisent l'ATP et le NADPH produits lors de la phase claire pour synthétiser des glucides (saccharose et amidon) à partir du dioxyde de carbone.

La première réaction permet la condensation d'une molécule de dioxyde de carbone avec un pentose (le ribulose 1,5-diphosphate). Elle est catalysée par la *ribulose diphosphate carboxylase* ou **rubisco** qui représente 50% des protéines du stroma, mais reste une réaction très lente. Le composé en C6 formé

Copyrighted material

est hydrolysé en deux molécules de 3-phosphoglycérate qui sont réduites en un triose-phosphate, le 3-phosphoglycéraldéhyde (**3-PGAL**) :

$$CH_2OPO_3^{2-}-CHOH-COO^- + NADPH,H^+ + ATP \rightarrow$$
$$CH_2OPO_3^{2-}-CHOH-CHO + NADP^+ + ADP + Pi$$

L'étape «rubisco» fait partie du **cycle de Calvin-Benson**, cycle complexe permettant de régénérer le ribulose 1,5-diphosphate et de former le **3-PGAL**.

Le **3-PGAL** est transporté vers le cytoplasme où il est converti en fructose 6-phosphate (hexose) et glucose 1-phosphate par inversion des réactions de la glycolyse. Le glucose 1-phosphate est transformé en nucléotide, l'UDP-glucose qui, combiné au fructose 6-phosphate, forme le saccharose 6-phosphate précurseur du saccharose utile aux végétaux. La majorité du **3-PGAL** demeurant dans le chloroplaste est transformée en **amidon**, polyoside de réserve des végétaux (cf. fiche 13). Pour synthétiser une molécule de **3-PGAL**, le cycle de Calvin (figure 6) doit se dérouler trois fois ce qui correspond à la consommation de neuf molécules d'ATP et six molécules de NADPH. La consommation d'ATP, plus importante que celle de NADPH, est compensée par la phosphorylation cyclique.

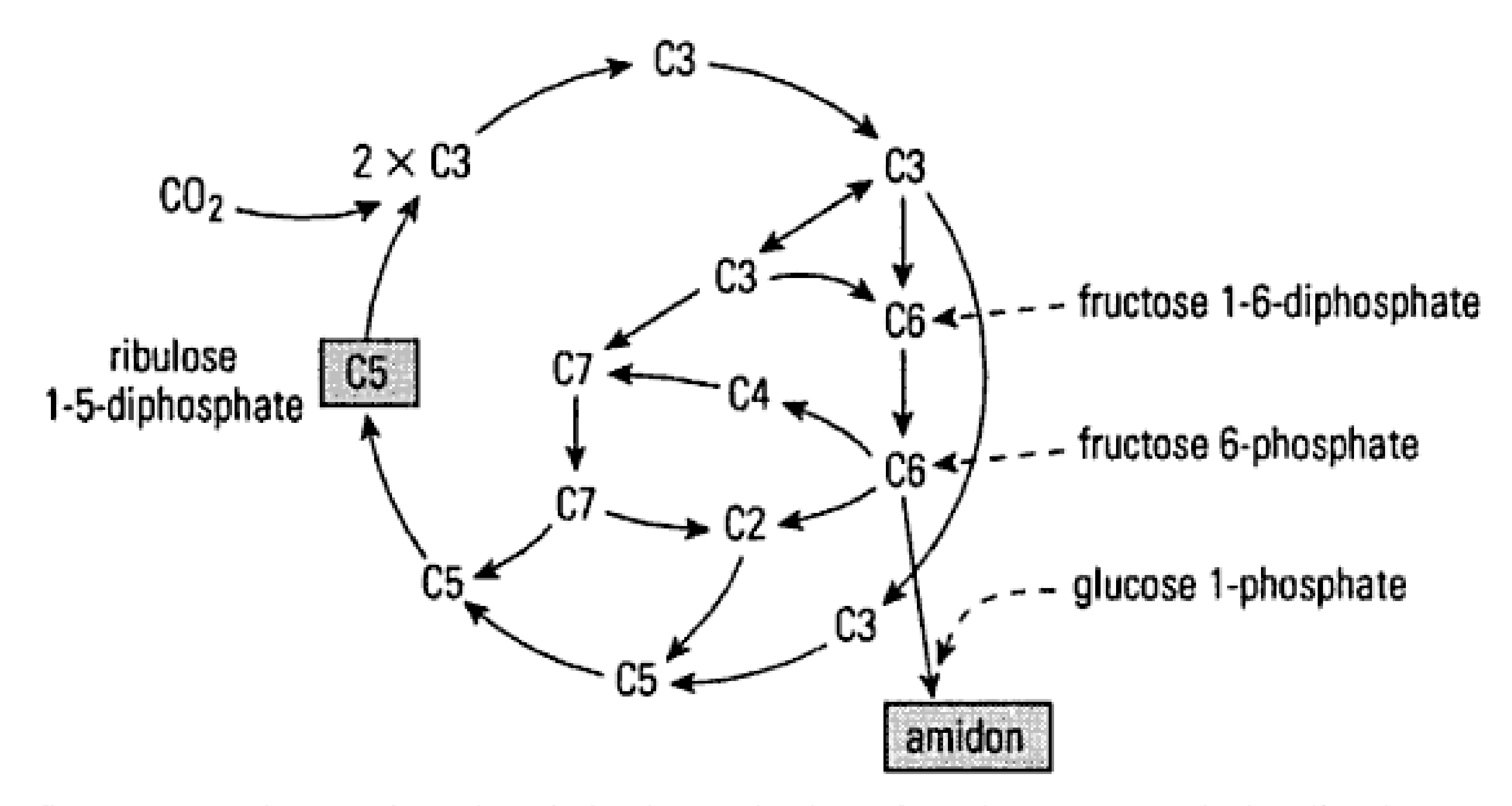


Fig. 6 – Représentation simplifiée du cycle de Calvin. Les composés impliqués sont indiqués seulement par leur nombre d'atomes de carbone.

Les plantes qui fixent le dioxyde de carbone sur le 3-phosphoglycéraldéhyde sont appelées plantes C3.

Lorsque la concentration en dioxyde de carbone est faible, un processus consommant du dioxygène et libérant du dioxyde de carbone est mis en jeu, c'est la **photorespiration**. Ce phénomène, rencontré dans les plantes des pays chauds est résolu par mise en place du cycle de Calvin dans les cellules de la **gaine vasculaire** non exposées à l'air ambiant (concentration en dioxygène basse). Le dioxyde de carbone de l'air ambiant est combiné à des

Copyrighted material



molécules en C3 dans les cellules du mésophylle ; les molécules résultantes, en C4, sont transférées aux cellules de la gaine vasculaire dans lesquelles elles sont dégradées en molécule en C3 et dioxyde de carbone, ce qui assure une concentration élevée en CO_2 favorable à l'action du rubisco . Cette voie est appelée **voie C4** ou **voie de Hatch-Slack** et caractérise les **plantes C4**.

La photosynthèse est donc une source immédiate d'énergie pour les organismes autotrophes et une source différée (par l'intermédiaire de la chaîne nutritionnelle) pour les organismes hétérotrophes.

Copyrighted material



Quelques aminoacides

$R-CH(NH_2)COOH$ aminoacides entrant dans la composition des protéines

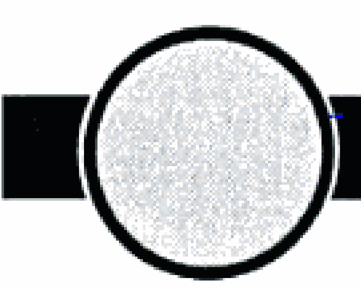
* aminoacides essentiels

R	Nom	Codes		$pK_{a\,COOH}$	$pK_{a\,NH_3^+}$	$pK_{a\,R}$
$-CH_3$	alanine	Ala	A	2,35	9,87	
$-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-NH_2$	arginine	Arg	R	1,82	8,99	12,48
$-CH_3-CO(NH_2)$	asparagine	Asn	N	2,14	8,72	
$-CH_2-COOH$	acide aspartique	Asp	D	1,99	9,9	3,9
$-CH_2-SH$	cystéine	Cys	C	1,92	10,7	8,32
$-(CH_2)_2-CO(NH_2)$	glutamine	Gln	Q	2,17	9,13	
$-(CH_2)_2-COOH$	acide glutamique	Glu	E	2,1	9,47	4,077
$-H$	glycine	Gly	G	2,35	9,78	
$-CH_2-$ (cycle : N, NH)	histidine	His	H	1,8	9,33	6,04
$-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$	**isoleucine***	Ile	I	2,32	9,76	
$-CH_2-CH(CH_3)_2$	**leucine***	Leu	L	2,33	2,74	
$-(CH_2)_3-CH_2NH_2$	**lysine***	Lys	K	2,16	9,06	10,54
$-(CH_2)_2-S-CH_3$	**méthimine***	Met	M	2,13	9,28	
$-CH_2-$ (cycle benzénique)	**phénylalanine***	Phe	F	2,2	9,31	
H–N (cycle), COOH	proline	Pro	P	1,95	10,64	
$-CH_2OH$	sérine	Ser	S	2,19	9,21	
$-CHOH-CH_3$	thréonine*	Thr	T	2,09	9,1	

Copyrighted material

R	Nom	Codes		$pK_{a\,COOH}$	$pK_{a\,NH_3^+}$	$pK_{a\,R}$
3-indolylméthyle ($-CH_2-$ sur le cycle indole, N–H)	thryptophane*	Trp	W	2,46	9,41	
$-CH_2-C_6H_4-OH$	tyrosine	Tyr	Y	2,2	9,21	10,46
$-CH(CH_3)_2$	valine*	Val	V	2,29	9,74	

Copyrighted material



Index

Les numéros indiqués en gras correspondent au numéro des fiches.

Copyrighted material

Copyrighted material

Achevé d'imprimer sur rotative numérique par Book It !
dans les ateliers de l'Imprimerie Nouvelle Firmin Didot
Le Mesnil-sur-l'Estrée

Réf. : 2106809/03
N° d'impression : 88471

Imprimé en France

Copyrighted material

Copyrighted material

Copyrighted material

Copyrighted material

L'indispensable



Biochimie

Des mémentos complets, pratiques et intelligents pour apprendre, réviser et retrouver facilement tous les résultats fondamentaux.

L'essentiel de chaque notion est présenté sous la forme d'une **fiche** et un **index détaillé** permet d'accéder immédiatement à l'information recherchée.

L'objectif des ouvrages de la collection « L'indispensable » est de rassembler les connaissances qu'il est nécessaire d'acquérir **au cours du premier cycle des études scientifiques et médicales des universités, dans les classes préparatoires aux grandes écoles et dans les instituts universitaires technologiques.**

Ils constituent en outre des **ouvrages de référence**, utiles à **l'ingénieur** pendant sa formation puis dans sa vie professionnelle, ainsi qu'**au futur enseignant** préparant des concours de recrutement comme le CAPES.

Réf. 210.6809
ISBN : 978 2 7495 0324 0
www.editions-breal.fr



Copyrighted material